

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-081409

(43)Date of publication of application : 21.03.2000

(51)Int.Cl.

G01N 27/327  
G01N 27/26

(21)Application number : 11-186575

(71)Applicant : NEC CORP

(22)Date of filing : 30.06.1999

(72)Inventor : MATSUMOTO TATSU

(30)Priority

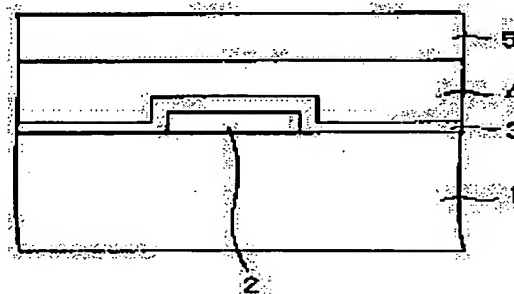
Priority number : 10187528 Priority date : 02.07.1998 Priority country : JP

(54) ENZYME ELECTRODE AND BIOSENSOR OR MEASURING INSTRUMENT USING THE SAME

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide an enzyme electrode or the like that is excellent in long-term stability and usable under a wide range of measuring conditions.

**SOLUTION:** This enzyme electrode has an electrode 2 provided on an insulating substrate 1 and functioning as a working electrode, and a bonding layer 3 composed chiefly of  $\gamma$ -aminopropyl triethoxysilane is formed thereover. Further, a fixed enzyme layer 4 in which an enzyme having a catalytic function is fixed in an organic high polymer and a limited permeation layer 5 made of a fluoroalcohol ester layer of a methacrylic acid resin are sequentially formed over the bonding layer 3.



### LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 30.06.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3214561

[Date of registration] 27.07.2001

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2000-81409  
(P2000-81409A)

(43) 公開日 平成12年3月21日 (2000.3.21)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード <sup>*</sup> (参考)
G 0 1 N 27/327		G 0 1 N 27/30	3 5 3 B
27/26	3 7 1	27/26	3 7 1 D
			3 7 1 B
	3 8 1		3 8 1 A
		27/30	3 5 3 J
審査請求 有 請求項の数55 O L (全 29 頁)			

(21) 出願番号 特願平11-186575

(22) 出願日 平成11年6月30日 (1999.6.30)

(31) 優先権主張番号 特願平10-187528

(32) 優先日 平成10年7月2日 (1998.7.2)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000004237

日本電気株式会社

東京都港区芝五丁目7番1号

(72) 発明者 松本 達

東京都港区芝五丁目7番1号 日本電気株式会社内

(74) 代理人 100070219

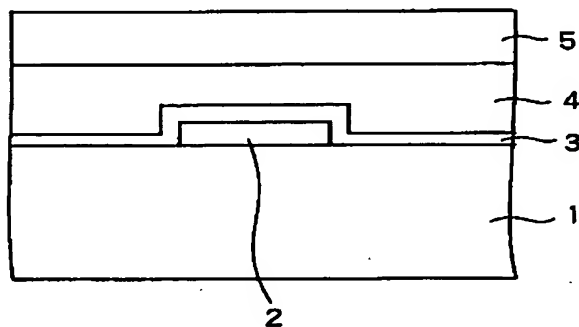
弁理士 若林 忠 (外3名)

(54) 【発明の名称】 酵素電極およびそれを用いたバイオセンサ、測定器

(57) 【要約】

【課題】 長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用可能な酵素電極等を提供すること。

【解決手段】 絶縁基板1上に作用極として機能する電極2を設け、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3を形成する。そして、さらにその上に、有機高分子中に触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5を順次形成する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする酵素電極。

【請求項 2】 前記ビニル系重合体は、不飽和炭化水素、不飽和カルボン酸、および不飽和アルコールからなる群より選ばれた一種以上のモノマーの単独重合体または共重合体であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素電極。

【請求項 3】 前記ビニル系重合体は、ポリカルボン酸であることを特徴とする請求項 1 に記載の酵素電極。

【請求項 4】 前記ビニル系重合体に対し前記フルオロアルキレンブロックがエステル基を介して結合したことを特徴とする請求項 1 乃至 3 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 5】 前記ペンダント基中に含まれるフッ素原子数を  $x$ 、前記ペンダント基中に含まれる水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記ペンダント基のフッ素含有率が、 $0.3 \sim 1$  であることを特徴とする請求項 1 乃至 4 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 6】 前記ペンダント基の炭素数が  $3 \sim 15$  であることを特徴とする請求項 1 乃至 5 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 7】 前記ポリマーの分子量が、 $1000 \sim 50000$  である請求項 1 乃至 6 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 8】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルから主としてなることを特徴とする酵素電極。

【請求項 9】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする酵素電極。

【請求項 10】 前記ポリカルボン酸 (B) が、ポリメタクリル酸、ポリアクリル酸、またはアクリル酸とメタクリル酸の共重合体であることを特徴とする請求項 9 に記載の酵素電極。

【請求項 11】 前記ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルは、ポリカルボン酸 (B) のカルボキシル基の少なくとも一部が、炭素数  $2 \sim 10$  のアルキルアルコールによりエステル化されてなるエステル化合物であることを特徴とする請求項 9 または 10 に記載の

酵素電極。

【請求項 12】 前記ポリカルボン酸 (B) のアルキルアルコールエステルは、ポリメタクリル酸シクロヘキシルであることを特徴とする請求項 11 に記載の酵素電極。

【請求項 13】 前記ポリカルボン酸 (A) が、ポリメタクリル酸、ポリアクリル酸、またはアクリル酸とメタクリル酸の共重合体であることを特徴とする請求項 8 乃至 12 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 14】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基中のフッ素原子数を  $x$ 、水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率が、 $0.3 \sim 1$  であることを特徴とする請求項 8 乃至 13 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 15】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールの炭素数が  $3 \sim 15$  であることを特徴とする請求項 8 乃至 14 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 16】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルに含まれるフルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールは、一級アルコールであることを特徴とする請求項 8 乃至 15 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 17】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルは、ポリメタクリル酸 1H、1H-パーフルオロオクチルであることを特徴とする請求項 16 に記載の酵素電極。

【請求項 18】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルは、ポリアクリル酸 1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルであることを特徴とする請求項 16 に記載の酵素電極。

【請求項 19】 前記ポリカルボン酸 (A) のフルオロアルコールエステルの分子量が、 $1000 \sim 50000$  である請求項 8 乃至 18 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 20】 絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする酵素電極。

【請求項 21】 前記フルオロアルコールエステル基中のフッ素原子数を  $x$ 、水素原子数を  $y$  としたときに、 $x/(x+y)$  で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率が、 $0.3 \sim 1$  であることを特徴とする請求項 20 に記載の酵素電極。

【請求項 22】 前記フルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールの炭素数が  $3 \sim 15$  である

ことを特徴とする請求項 20 または 21 に記載の酵素電極。

【請求項 23】 前記フルオロアルコールエステル基を構成するフルオロアルコールは、一級アルコールであることを特徴とする請求項 20 乃至 22 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 24】 前記フルオロアルコールエステル基は、ポリメタクリル酸 1H、1H-パーフルオロオクチルであることを特徴とする請求項 23 に記載の酵素電極。

【請求項 25】 前記フルオロアルコールエステル基は、ポリアクリル酸 1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル基であることを特徴とする請求項 23 に記載の酵素電極。

【請求項 26】 前記アルキルアルコールエステル基の炭素数が 2～10 であることを特徴とする請求項 20 乃至 25 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 27】 前記アルキルアルコールエステル基は、ポリメタクリル酸シクロヘキシルであることを特徴とする請求項 26 に記載の酵素電極。

【請求項 28】 前記制限透過層の厚みが、0.01～3 μm である請求項 1 乃至 27 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 29】 前記電極と前記固定化酵素層との間に、シランカップリング剤から主としてなる結合層を有することを特徴とする請求項 1 乃至 28 いずれかに記載の酵素電極。

【請求項 30】 前記シランカップリング剤は、γ-アミノプロピルトリエトキシシランであることを特徴とする請求項 29 に記載の酵素電極。

【請求項 31】 前記結合層と前記固定化酵素層との間に、パーフルオロカーボン骨格を有するイオン交換樹脂から主としてなるイオン交換樹脂層を有することを特徴とする請求項 29 または 30 に記載の酵素電極。

【請求項 32】 請求項 1 乃至 31 いずれかに記載の酵素電極を作用極として用いたバイオセンサ。

【請求項 33】 尿中のグルコースの測定に使用されることを特徴とする請求項 32 に記載のバイオセンサ。

【請求項 34】 請求項 32 または 33 に記載のバイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 35】 請求項 32 または 33 に記載のバイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器。

【請求項 36】 前記データ処理部は、(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻

報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、

(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、(h) 前記酵素電極の校正時期を検出し報知する校正時期報知手段、(i) 前記酵素電極の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および (k) 前記酵素電極の校正を行う電極校正手段のうち、一部または全部を含むことを特徴とする請求項 35 に記載の測定器。

【請求項 37】 前記データ報知部は、前記データ処理部により算出された測定値のほか、さらに、(a)～(k) のうちまたは二以上の手段により得られた処理結果を報知することを特徴とする請求項 36 に記載の測定器。

【請求項 38】 前記時刻設定手段で設定できる時刻が複数であることを特徴とする請求項 36 または 37 に記載の測定器。

【請求項 39】 前記暗証番号登録手段は複数の暗証番号を登録できることを特徴とする請求項 36 乃至 38 いずれかに記載の測定器。

【請求項 40】 前記測定値記憶手段は複数の測定値を記憶できることを特徴とする請求項 36 乃至 39 いずれかに記載の測定器。

【請求項 41】 前記メモ登録手段は、予め登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備え、登録できるメモが複数であることを特徴とする請求項 36 乃至 40 いずれかに記載の測定器。

【請求項 42】 温度センサをさらに有し、該温度センサで測定された、測定試料または測定環境の温度を用いて、前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 36 乃至 41 いずれかに記載の測定器。

【請求項 43】 pH センサをさらに有し、該 pH センサで測定された測定試料の pH 値を用いて前記測定値が補正されることを特徴とする請求項 36 乃至 42 いずれかに記載の測定器。

【請求項 44】 前記データ処理部に接続された通信処理部をさらに有し、該通信処理部により、前記データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されることを特徴とする請求項 36 乃至 43 いずれかに記載の測定器。

【請求項 45】 前記データ処理部に接続された印刷部をさらに有し、該印刷部により、前記データ処理部で得られたデータが印刷されることを特徴とする請求項 36 乃至 44 いずれかに記載の測定器。

【請求項 46】 前記データ処理部に接続された外部記憶部をさらに有し、該外部記憶部により、前記データ処

理部で得られたデータが保存されることを特徴とする請求項 3 6 乃至 4 5 いずれかに記載の測定器。

【請求項 4 7】 前記外部記憶部は、脱着可能な記憶媒体を利用するものであることを特徴とする請求項 4 6 に記載の測定器。

【請求項 4 8】 前記記憶媒体が、半導体記憶媒体、磁気記憶媒体、または光学的記憶媒体であることを特徴とする請求項 4 7 に記載の測定器。

【請求項 4 9】 前記データ報知部の報知方法が、デジタル数値、アナログ数値、図形、音声、音、振動、熱、または光であることを特徴とする請求項 3 4 乃至 4 8 いずれかに記載の測定器。

【請求項 5 0】 前記バイオセンサが着脱自在に設けられたことを特徴とする請求項 3 4 乃至 4 9 いずれかに記載の記載の測定器。

【請求項 5 1】 絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介して、酵素を含む第一の液を塗布した後、乾燥させ、固定化酵素層を形成する工程と、該固定化酵素層に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む第二の液を塗布した後、乾燥させ、制限透過層を形成する工程とを含むことを特徴とする酵素電極の製造方法。

【請求項 5 2】 前記電極を形成した後、シランカップリング剤から主としてなる結合層を形成し、次いで前記固定化酵素層を形成することを特徴とする請求項 5 1 に記載の酵素電極の製造方法。

【請求項 5 3】 前記第二の液をスピンコート法により塗布することを特徴とする請求項 5 1 または 5 2 に記載の酵素電極の製造方法。

【請求項 5 4】 ディップ法により前記第二の液を塗布した後、窒素ガスを吹き付けながら乾燥を行うことを特徴とする請求項 5 1 または 5 2 に記載の酵素電極の製造方法。

【請求項 5 5】 前記制限透過層の厚みを、乾燥後において 0.01~3 μm とすることを特徴とする請求項 5 1 乃至 5 4 いずれかに記載の酵素電極の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、溶液中の特定の化学物質を、酵素反応を用いて電気化学的に測定する酵素電極およびそれを用いたバイオセンサ、測定器に関する。

【0002】

【従来の技術】 生体試料等に含まれる各種成分の測定方法として、酵素反応と電気化学反応を組み合わせた測定方法が広く用いられている。たとえば、溶液中の化学物質を酵素の触媒機能により過酸化水素に変換し、この過酸化水素を酸化還元反応により計測するバイオセンサが

汎用化している。たとえばグルコースバイオセンサは、グルコースをグルコースオキシターゼ (GOX) によって酸化し、グルコノラクトンと過酸化水素とする。発生する過酸化水素はグルコース濃度に比例することから、この過酸化水素の発生量を測定することによって試料中のグルコース量を定量する。

【0003】 この種のセンサにおいては、測定対象の化学物質の透過を制限する層 (以下制限透過層と称する) をセンサ電極部の最外層に形成することが一般的に行われている。図 9 はこのような構造の酵素電極を示すものであり、絶縁基板 1 上に作用極として機能する電極 2 が設けられ、その上に結合層 3、触媒機能をもつ酵素を有機高分子中に固定化した固定化酵素層 4、制限透過層 5 が順次形成されている。このような制限透過層を設けることにより、測定対象となる化学物質の過剰な拡散が制限され、測定範囲をある程度高濃度にまで拡大することが可能となる。また、固定化酵素層が、被検体となる尿、血液などと直接接触することを防ぎ、タンパク質等の付着や酵素の分解による性能低下を避けることができる。ここで、制限透過層の材料としては、従来、ポリアルキルシロキサン (特開平 10-26601 号公報) やシリコン (特開平 6-242068 号公報) などが用いられてきた。

【0004】 上記と異なる構造の制限透過層を設けた例として、特開昭 59-22620 号公報記載の技術がある。これは、制限透過層として細孔が設けられたテフロン (登録商標、ポリテトラフルオロエチレン) 製の膜やポリフッ化ビニリデン製の膜を電極を覆うように装着したものである。

【0005】 さらに、米国特許 5,696,314 号には、テフロン粒子等を含む多孔質性の制限透過層を固定化酵素層の上に形成した酵素電極が開示されている。この酵素電極は、図 11 に示すように、基板 30 上に白金等からなる電極 31 が形成され、その上に固定化酵素層 32 が形成されている。そして、その上に接着層 33 を介して固定化酵素層 32 に含まれる酵素と同一の酵素を含む高分子層 34 が形成されている。さらにその上に、制限透過層 35、接着層 36、保護層 37 が形成されている。

【0006】 上記米国特許において、制限透過層 35 は多孔質性であり、ポリマー粒子、金属粒子、およびポリマーバインダーを必須成分とし、ポリマー粒子およびポリマーバインダーの材料としてテフロンを用いた例が開示されている。制限透過層 35 はスクリーン印刷法を用いて形成される。すなわち、まずテフロンバインダーをフッ素含有溶剤に溶解させた後、アルミナ粒子、テフロン粒子等を混合し、これをインクに練り混む (roll milled)。作製したインクをスクリーン印刷 (stenciled) することにより制限透過層 35 が形成される。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記従来技術は以下に示すような課題を有していた。

【0008】まず、制限透過層の材料としてポリアルキルシロキサンやシリコーンを用いた場合の課題について述べる。このような材料を用いた場合、長期間の使用に対する耐久性が必ずしも充分でないという問題があった。これは制限透過層の強度が充分でないことによるものである。酵素電極は、固定化酵素膜等、溶液中で膨潤する有機材料を積層した構造を有する。したがって制限透過層の強度が不足すると、このような薄膜の膨潤に耐えられずに亀裂等が生じる。このため、長期間使用した場合に酵素電極が破損することがあった。

【0009】また、汚染物質を高濃度含む試料を測定する場合、長期間にわたって測定を行った場合に、センサ出力が顕著に低下することがあった。これは、汚染物質が制限透過層自体へ付着し、本来の制限透過性が低下することによるものである。特に体液の場合、タンパク質以外にも尿素化合物等の物質が制限透過層自体へ付着するため、制限透過性の低下は著しい。

【0010】さらに、高濃度まで測定濃度範囲を拡大した場合に応答速度が遅くなることがあった。これは、測定対象物質を高濃度含む試料を分析する場合、従来使用されてきた制限透過層を用いた場合、選択透過性の限界により膜厚を厚くせざるを得ず、このため制限透過層内の拡散速度が安定するまでに時間を要することによるものである。

【0011】テフロン製の膜やポリフッ化ビニリデン製の膜を用いた技術（特開昭59-22620号公報）

は、以下の課題を有していた。

【0012】テフロン等を用いたフィルターを使用する方法は従来から行われてきたが、通常、酵素電極の外部に酵素電極を覆うように配置する使用形態としていた。上記フッ素化合物は、その分子構造からも明らかなように、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が劣るため固定化酵素層等と一体化して形成することが困難だからである。特開昭59-22620号公報にも、酵素電極の先端部に上記フッ素化合物からなる膜を装着する構成が示されているのみであり、電極表面部に接着して一体化する構成は示されていない。

【0013】したがって上記従来技術では、制限透過層と電極表面部との間に一定の間隙が生じることとなり、①電極表面に目的物質が到達するのに時間を要し応答速度が遅くなる、②洗浄に長時間を要し再測定時間が長くなる、という課題を有していた。

【0014】また上記フッ素化合物を用いた制限透過層は、制限透過性を付与するため、10～100 $\mu\text{m}$ の孔を設けるとともに膜厚をある程度厚く確保する必要がある。このため、応答速度が遅くなり、また、洗浄に長時間を要し再測定時間が長くなるという課題を有していた。

【0015】さらに、上記フッ素化合物を用いた制限透過層は柔軟性に欠けるため、制限透過層よりも電極側に配置される層が膨潤した場合、破損しやすいという問題があった。特に、膨潤性の酵素固定化層に隣接して配置した場合、この問題が顕著となる。

【0016】一方、米国特許5,696,314号には、テフロン粒子およびテフロンバインダーを含む制限透過層を電極の上に一体化して形成した構成が開示されている。

【0017】しかしながら、テフロンのようなフッ素含有量の多いポリマーを制限透過層に用いた場合、固定化酵素層等の隣接する高分子層との密着性に劣ることは前述したとおりである。したがって、制限透過層を固定化酵素層等と一体化して形成したとしても、これらの層の界面の接着力は充分でない。その上、テフロンを用いた制限透過層は柔軟性に欠けるため、隣接する層が膨潤した場合、その膨潤に十分に追従することができない。したがって、使用中に、制限透過層と、固定化酵素層等の隣接層との間で剥離が生じやすいという問題があった。いったん剥離が生じると、制限透過層と電極表面部との間に一定の間隙が生じることとなり、①電極表面に目的物質が到達するのに時間を要し応答速度が遅くなる、②洗浄に長時間を要し、再測定時間が長くなる、という問題が生じる。

【0018】また上記公報に示されているテフロン等を用いた場合、溶剤に対する溶解性が充分でないため溶液の調整が困難である。このためスピンコート法等の技術により層形成することが難しく、制限透過層の薄層化が困難である。くわえて、上記フッ素化合物を用いた制限透過層は多孔質とすることによって制限透過性を発現させるものであるため、膜厚をある程度厚く確保する必要がある。上記米国特許公報には、10～40 $\mu\text{m}$ の厚みが好ましいと記載されている。以上のように、制限透過層が厚くせざるを得ないため、応答速度が遅く、また、洗浄に長時間を要するという課題を有していた。

【0019】さらに、上述のようにテフロンを用いた制限透過層は柔軟性に欠けるため、隣接する層の膨潤により制限透過層が破損しやすく、この点でも改善の余地を有していた。特に、膨潤性の酵素固定化層に隣接して配置した場合、この問題が顕著となる。

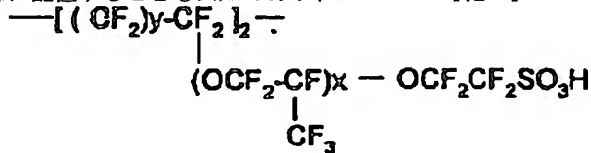
【0020】本発明は、従来技術の有する上記課題を解決し、広範囲の使用条件下において測定することが可能であり、長期使用に対する耐久性が良好な酵素電極およびそれを用いたバイオセンサ、測定器を提供することを目的とする。

【0021】なお、制限透過層の構成材料としての使用例ではないが、フッ素化合物を使用した従来技術として以下のようなものがある。

【0022】10～50 $\mu\text{m}$ 程度のフッ素化合物膜（テフロン膜）を酸素透過膜として用いることは、従来から

広く行われており、たとえば特開昭56-73342号公報などにも開示されている。しかし、これは通常、固定化酵素層と電極との間に配置されるものであって固定化酵素層の上部に配置するものではなく、制限透過層の機能を有するものではない。

【0023】また、イオン交換樹脂であるナフィオン膜を固定化酵素層の上部に配置することも公知であり、た



式(1)

ナフィオン膜を固定化酵素層の上部に配置することにより、過酸化水素の逆拡散を抑え、ピーク値に到達した後のグルコースに対する応答値の経時変化を抑制し、応答特性を向上させることができる。しかし、末端スルホン酸基を有するため、制限透過層の機能を十分に得ることはできない。イオン交換樹脂は、電極反応に干渉するイオン性の干渉物質の透過を阻止することを目的とするものであって、過剰なグルコース等の透過を制限するという機能はほとんど有していないのである。

【0025】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決する本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする酵素電極が提供される。

【0026】すなわち本発明の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極（電極層）と、この電極上に設けられた種々の機能を有する複数の層からなっている。

【0027】上記制限透過層を構成するポリマーは、フルオロアルキレンブロック（フルオロアルキレン単位）を含有するペンダント基を有している。このため、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制され、長期使用した場合にも安定した出力特性を示す酵素電極が得られる。またフルオロアルキレンはほとんどの非フッ素系溶剤や界面活性剤等の洗浄剤に溶けることがないため、耐薬品性の良好な酵素電極が得られる。

【0028】また、このポリマーはフッ素を含まないビニル系重合体を主鎖とするため、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が良好である。このため、電極表面に形成された固定化酵素層等と制限透過層との間に間隙が生じることがない。したがって、応答速度の迅速化、および洗浄に要する時間の短縮化を図ることができる。また、密着性が良好なために、層構造の耐久性が向上し、長期使用した場合にも損傷の起こりにくい酵素電

たとえば特開平8-50112号公報に開示されている。ナフィオンとは、陽イオン交換樹脂であり、パーフルオロメチレン主鎖に、末端スルホン酸基を有するパーフルオロポリアルキレンエーテル側鎖を結合させた構造を有している（式(1)）。

【0024】

【化1】

極が得られる。ここで、上記フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基以外に、他の適当な側鎖、官能基が結合していてもよい。たとえば-OH基、-COOH基等の適度な極性を有する官能基を有することによって、隣接する固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性をさらに高めることができる。

【0029】さらに上記制限透過層を構成するポリマーは、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合した特有の構造を有しているため、たとえばグルコースセンサ等に用いた場合、良好な制限透過性を示す。このため測定濃度範囲を大幅に拡大することができる。また、制限透過性が良好なため制限透過層の層厚を薄くすることが可能となり、たとえば0.1μm以下の層厚とすることができる。このため、応答速度の迅速化、および洗浄に要する時間の短縮化を図ることができる。

【0030】上記制限透過層は、ディップ法、スピニング法、スプレー法等の簡単な工程で均質な薄膜を製造することが可能であり、量産性にも優れている。

【0031】また本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルから主としてなることを特徴とする酵素電極が提供される。

【0032】また本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸(B)のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする酵素電極が提供される。

【0033】さらに本発明によれば、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、アルキルアルコールエステル基



およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする酵素電極が提供される。

【0034】これらの酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極（電極層）と、この電極上に設けられた種々の機能を有する複数の層からなっており、制限透過層が、特定構造からなるポリマーにより構成されていることを特徴としている。

【0035】本発明の酵素電極は、制限透過層の構成材料としてポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルを用いている。ここで、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルとは、ポリカルボン酸のカルボキシル基の一部、または全部をフルオロアルコールでエステル化したものである。またフルオロアルコールとはアルコール中の水素のすべて、または少なくとも一つをフッ素に置き換えたものである。

【0036】上記制限透過層の構成材料は、フルオロアルコールエステル基を有するため、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制され、長期使用した場合にも安定した出力特性を示す酵素電極が得られる。またフルオロアルコールエステル基はほとんどの非フッ素系溶剤や界面活性剤等の洗浄剤に溶けることがないため、耐薬品性の良好な酵素電極が得られる。

【0037】これらの酵素電極は、制限透過層にポリカルボン酸主鎖を有するポリマーを用いている。また、この主鎖に対してフルオロアルコールがエステル基を介して結合している。このため固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が良好であり、電極表面に形成された固定化酵素層等と制限透過層との間に間隙が生じることがない。したがって、応答速度の迅速化、および洗浄に要する時間の短縮化を図ることができる。また、密着性が良好なために、層構造の耐久性が向上し、長期使用した場合にも損傷の起こりにくい酵素電極が得られる。ここで上記ポリカルボン酸からなる主鎖に対し、フルオロアルコールエステル基以外の適当な官能基が結合しているもよい。適度な極性を有する官能基を有することによって、隣接する固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性をさらに高めることができる。

【0038】さらに、上記制限透過層を構成するポリマーは、ポリカルボン酸のカルボキシル基の一部または全部がフルオロアルコールによりエステル化された特有の構造を有しているため、たとえばグルコースセンサ等に用いた場合、測定濃度範囲を大幅に拡大することができる。また、制限透過性が良好なため制限透過層の層厚を薄くすることが可能となる。たとえば、0.1  $\mu\text{m}$  以下の層厚とすることができる。このため、応答速度の迅速化、および洗浄に要する時間の短縮化を図ることができる。

【0039】なお上記制限透過層は、ディップ法、スピコート法、スプレー法等の簡単な工程で均質な薄膜を

製造することが可能であり、量産性にも優れている。

【0040】また、制限透過層を、①ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成、あるいは②アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなる構成とした場合、上述の効果に加え、高温時の安定性が良好になるという利点が得られる。酵素電極やこれを含むバイオセンサは、比較的高温下（たとえば40℃程度）で保管・使用されることがある。通常の酵素電極は、高温下に放置した後、測定に使用すると、放置前に測定したときに比べ、測定感度が著しく変動することが多かった。これに対し上記構成の制限透過層を備えた酵素電極およびバイオセンサは、高温下に放置しても測定感度がほとんど変化せず、安定性に優れている。

【0041】以上述べた本発明の酵素電極において、電極と固定化酵素層とは、直接、接するように形成されていてもよいし、これらの間に他の層が介在してもよい。たとえば、電極と固定化酵素層の間にシランカップリング剤から主としてなる結合層を有する構成としたり、この結合層と固定化酵素層の間にパーフルオロカーボン骨格を有するイオン交換樹脂から主としてなるイオン交換樹脂層を有する構成とすることもできる。同様に、固定化酵素層と制限透過層とは、直接、接するように形成されていてもよいし、これらの間に他の層が介在してもよい。

【0042】また本発明によれば、上記の酵素電極を作用極として用いたバイオセンサが提供される。このバイオセンサは、酵素電極表面に上述した特有の構造を有するポリマーからなる制限透過層を設けているため、長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用することが可能である。

【0043】さらに本発明によれば、上記バイオセンサを用いた種々の測定器が提供される。すなわち、本発明によれば、上記バイオセンサと、該バイオセンサから得られた電気信号を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。

【0044】また、上記バイオセンサと、該バイオセンサから電気信号を得る電気化学測定回路部と、該電気信号をもとに測定値を算出するデータ処理部と、該測定値を報知するデータ報知部とを有してなることを特徴とする測定器が提供される。

【0045】これらの測定器は、特定構造の作用極を具備するバイオセンサを有しているため、長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用することが可能である。その上、操作方法が簡便であり、装置に不慣れな人でも簡単に扱うことができる。

【0046】また本発明によれば、絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介し



て、酵素を含む第一の液を塗布した後、乾燥させ、固定化酵素層を形成する工程と、該固定化酵素層に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む第二の液を塗布した後、乾燥させ、制限透過層を形成する工程とを含むことを特徴とする酵素電極の製造方法が提供される。

【0047】この酵素電極の製造方法は、上記のような特定構造のポリマーを含む第二の液を塗布・乾燥することにより制限透過層を形成する。このため、繰り返し測定時における安定性、隣接する層との密着性、耐久性、制限透過性に優れる制限透過層を、良好な膜厚制御性で形成することができる。また、上記第二の液は低粘度であるので、制限透過層を容易に薄い膜厚で形成することができる。具体的には、乾燥後において0.01～3 μmの制限透過層を良好に形成することができる。

【0048】

【発明の実施の形態】本発明において、「酵素電極」とは固定化酵素層の設けられた電極をいう。「バイオセンサ」は、上記酵素電極を含む素子部分をいうものとし、必要に応じて、対極、参照極を含むものとする。また、本発明における「測定器」とは、上記バイオセンサを含むシステムをいい、バイオセンサから得られた電気信号を報知したり処理を行う種々の手段を備えたものをいう。以下、本発明に係る酵素電極、バイオセンサ、および測定器について詳細に説明する。

【0049】本発明に係る第一の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなることを特徴とする。

【0050】「主としてなる」とは、上記ポリマーが制限透過層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、制限透過層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0051】ここで、「フッ素を含まないビニル系重合体」は、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性を良好にする役割を有する部分であるから、特に構造の制限はないが、フッ素を含むものであってはならない。ペンダント基を除く重合体部分にフッ素を含むと、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が低下し、溶液の調整が困難となり、制限透過層を薄膜として形成することが困難になる。

【0052】フッ素を含まないビニル系重合体は、炭素-炭素結合からなる主骨格を有する重合体であり、好ましい例としては、不飽和炭化水素、不飽和カルボン酸、および不飽和アルコールからなる群より選ばれた一種以

上のモノマーの単独重合体または共重合体が挙げられる。このうち特にポリカルボン酸が好ましい。このような重合体を選択することによって、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性が特に良好となり、耐久性に優れる制限透過層を得ることができる。また、ビニル系重合体に対し、フルオロアルキレンブロックがエステル基を介して結合していることが好ましい。エステル基は適度な極性を有しているため、固定化酵素層等の他の有機高分子層との密着性がより向上する。例として、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルやポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルなどが挙げられる。

【0053】フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基とは、フルオロアルキレンを構成単位として含有するペンダント基をいう。フルオロアルキレンとは、アルキレン基の水素の一部または全部をフッ素で置換したものをいう。ペンダント基のフッ素含有率、すなわち、ペンダント基中に含まれるフッ素原子数をx、ペンダント基中に含まれる水素原子数をyとしたときの $x/(x+y)$ の値は、好ましくは0.3～1、さらに好ましくは0.8～1とする。このようにすることによって制限透過層に対する汚染物質の付着が抑制され、また、良好な制限透過性が得られる。

【0054】ペンダント基の炭素数は、好ましくは3～15、さらに好ましくは5～10、もっとも好ましくは8～10とする。このようにすることによって、ペンダント基の長さが適度となって良好な製膜性と制限透過性が得られ、隣接する高分子層との密着性も良好に維持される。

【0055】ビニル系重合体に対するペンダント基の結合率、すなわちペンダント基の含有率は特に制限がなく、他の高分子層材料や用途に応じて適宜な値とすることができる。たとえば、0.1～30%とする。このように撥水性を有するペンダント基の含有比率を適度な範囲とすることで、良好な制限透過性と、隣接高分子層に対する良好な密着性が得られる。ここでペンダント基の結合率とは、ビニル系重合体の主骨格となる炭素-炭素結合に結合するすべての基に対するペンダント基の占める割合をいう。たとえば、主鎖となるビニル系重合体がポリアクリル酸であって、-COOH基の10%がエステル化されペンダント基となっている場合は、-COOH基の結合率25%にエステル化率10%を乗じて得られる2.5%がペンダント基の結合率となる。

【0056】制限透過層を構成するポリマーの分子量は、好ましくは1000～50000、さらに好ましくは3000～30000とする。分子量が大きすぎると溶液の調整が困難となり、制限透過層の薄層化が困難となる。分子量が小さすぎると十分な制限透過性が得られない。なお、ここでいう分子量とは数平均分子量をいい、GPC (Gel Permeation Chromatography) により

測定される。

【0057】本発明に係る第二の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルから主としてなることを特徴とする。なお、「主としてなる」とは、上記ポリマーが制限透過層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、制限透過層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0058】また、本発明に係る第三の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなることを特徴とする。

【0059】また、本発明に係る第四の酵素電極は、絶縁基板上に設けられた電極と、該電極の上部に形成された固定化酵素層と、該固定化酵素層の上部に形成された制限透過層とを有し、該制限透過層は、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなることを特徴とする。なお、「主としてなる」とは、上記ポリマーが制限透過層を構成する主成分となっていることをいい、たとえば、制限透過層に対する上記ポリマーの含有率が50重量%以上であることをいう。

【0060】ポリカルボン酸（A）、（B）および上記ポリカルボン酸エステル化合物を構成するポリカルボン酸は、アクリル酸、メタクリル酸、フマル酸、イタコン酸等のカルボン酸を構成単位を有する重合体をいう。たとえばポリメタクリル酸、ポリアクリル酸またはこれらの共重合体等が挙げられる。ポリカルボン酸（A）とポリカルボン酸（B）は、同種のものであっても異種のものであってもよい。

【0061】フルオロアルコールエステル基に含まれるフッ素原子数をx、水素原子数をyとしたときに、 $x/(x+y)$ で表される前記フルオロアルコールエステル基のフッ素含有率は、好ましくは0.3～1、さらに好ましくは0.8～1とする。このようにすることによって制限透過層に対する汚染物質の付着が抑制され、また、良好な制限透過性が得られる。

【0062】フルオロアルコールエステルを構成するフルオロアルコールの炭素数は、好ましくは3～15、さらに好ましくは5～10、もっとも好ましくは8～10とする。このようにすることによって、ペンダント基の長さが適度となって良好な製膜性と制限透過性が得られ、隣接する高分子層との密着性も良好に維持される。

【0063】ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルのエステル化率は特に制限がなく、他の高分子層材

料や用途に応じて適宜な値とすることができる。たとえば、0.1～30%とする。エステル化率とは、主鎖のポリアクリル酸の有するカルボキシル基がエステル化された割合をいう。エステル化率を上記の範囲とすることで、撥水性を有するフルオロアルコールエステル基の含有率が適度となり、良好な制限透過性および隣接高分子層に対する良好な密着性が得られる。

【0064】本発明において、前記フルオロアルコールエステルを構成するフルオロアルコールは、一般アルコールであることが好ましい。制限透過層に対する汚染物質の付着が効果的に抑制され、また、酸、アルカリ、各種有機溶媒に対する高い耐薬品性が得られるからである。たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルやポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを好ましく用いることができる。

【0065】制限透過層を、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成、あるいは、アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物から主としてなる構成とすると、高温安定性の良好な酵素電極が得られる。

【0066】「フルオロアルコールエステル」の好ましい形態については上述したとおりである。

【0067】アルキルアルコールエステル部分のアルキルアルコールとは、 $C_nH_{n+2}OH$ （nは自然数）で表される鎖状または環状のアルコールをいう。nは1以上の整数であるが、好ましくは2～10、より好ましくは4～8、最も好ましくは6である。たとえば、ヘキシル基、シクロヘキシル基等が好ましく用いられる。このようにすれば、酵素電極を高温下に放置した場合の安定性がさらに良好となる。

【0068】制限透過層を、ポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルと、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとを含んでなる構成とする場合、制限透過層に対するポリカルボン酸（A）のフルオロアルコールエステルの含有率は、好ましくは50～99重量%、より好ましくは75～99重量%、最も好ましくは80～95重量%とする。含有率が低すぎると制限透過層の耐久性が低下する場合がある。また含有率が高すぎると高温下に放置した際の安定性が十分に得られない場合がある。一方、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルの制限透過層に対する含有率は、好ましくは1～50重量%、より好ましくは1～25重量%、最も好ましくは5～20重量%とする。含有率が低すぎると高温下に放置した際の安定性が十分に得られない場合がある。また含有率が高すぎると制限透過層の耐久性が低下する場合がある。なお、ポリカルボン酸（B）のアルキルアルコールエステルとは、ポリカルボン酸（B）の少なくとも一部が、上記アルキルアルコ

ールによりエステル化されてなるものであり、好ましい例としてポリメタクリル酸シクロヘキシルが挙げられる。

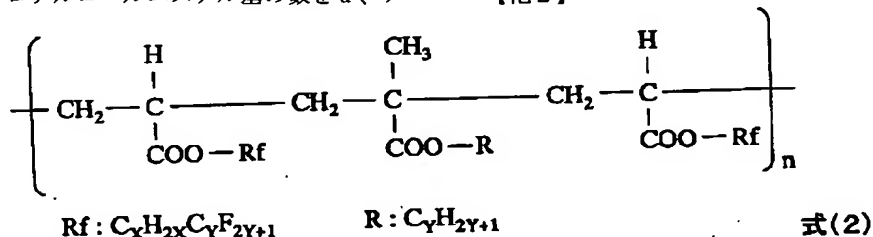
【0069】アルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物を用いて制限透過層を構成する場合、各エステル基の好ましい形態は上述したとおりであり、その組み合わせとして種々の形態のものを採用することができる。アルキルアルコールエステル基とフルオロアルコールエステル基の比率は特に制限がないが、上記エステル化合物中のフルオロアルコールエステル基の数を  $a$ 、ア

ルキルアルコールエステル基の数を  $b$  としたときの  $a/b$  の値は、好ましくは  $50/50 \sim 99/1$ 、より好ましくは  $75/25 \sim 99/1$ 、最も好ましくは  $80/20 \sim 95/5$  とする。

【0070】このようなポリカルボン酸エステル化合物の例として、たとえば下記式(2)に示す繰り返し単位を有する化合物が挙げられる。COO-R基をポリメタクリル酸シクロヘキシルとすれば、特に高温安定性が良好となる。また、制限透過性も良好となる。

【0071】

【化2】



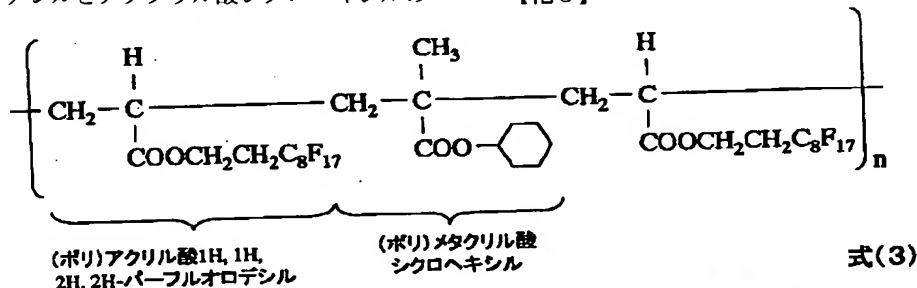
( $n$  は2以上の整数、 $X$  は0以上の整数、 $Y$  は1以上の整数を示す。)

このような化合物として、メタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体、あるいは、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの

共重合体等が挙げられる。たとえば下記式(3)のような、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの繰り返し単位を有する化合物が好ましく用いられる。

【0072】

【化3】



( $n$  は2以上の整数を示す。)

以上のような共重合体を用いれば、高温安定性が特に良好となる上、制限透過性層等他の特性も良好となる。

【0073】以上述べたように、本発明の酵素電極の制限透過層は特定構造のポリマーにより構成されるが、構造や分子量の異なる2種以上のポリマーの混合物により構成されていてもよい。

【0074】以上述べた酵素電極において、制限透過層を構成するポリカルボン酸(A)のフルオロアルコールエステルおよびアルキルアルコールエステル基およびフルオロアルコールエステル基を有するポリカルボン酸エステル化合物の分子量は、好ましくは1000~50000、さらに好ましくは3000~30000とする。分子量が大きすぎると溶液の調整が困難となり、制限透過層の薄層化が困難となることがある。分子量が小さすぎると十分な制限透過性が得られない場合がある。な

お、ここでいう分子量とは数平均分子量をいう。

【0075】以上述べた酵素電極において、制限透過層の厚みは、好ましくは0.01~3 $\mu\text{m}$ 、さらに好ましくは0.01~1 $\mu\text{m}$ 、最も好ましくは0.01~0.1 $\mu\text{m}$ とする。このような厚みとすることで、応答速度の向上および洗浄時間の短縮化を図ることができる。

【0076】本発明の酵素電極を用いたセンサの例を図10に示す。この例では、作用極7として酵素電極を用い、石英基板上にさらに対極8と参照極9とを備えた構造となっている。作用極7および対極8は白金電極であり、参照極9は銀/塩化銀電極である。作用極7の上部に $\gamma$ -アミノプロピルトリエトキシシランを主成分とする結合層3、触媒機能をもつ酵素を有機高分子中に固定化した固定化酵素層4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5が順次形成されている。作用極7、対極8、参照極9はそれぞれ測定

系に電氣的に接続されている。

【0077】図ではアンペロメトリックタイプのセンサの例を示したが、本発明の酵素電極は、イオン感受性電界効果型トランジスタタイプのセンサにも適用できることはいふまでもない。

【0078】本発明のバイオセンサは、尿中のグルコース（尿糖）を測定する尿糖センサとして用いた場合、特に効果的である。

【0079】尿糖の測定下限に関し、従来技術では50mg/dlであったのに対し、本発明のセンサでは1～5mg/dlまで検出可能となる。従来のバイオセンサではS/N比が高いため、50mg/dl以下の領域の低濃度グルコースを測定するとセンサ出力がノイズに埋もれてしまい、定量的な測定が困難であった。これに対し本発明のセンサはS/N比が低いため、低濃度領域でも高精度の測定が可能となる。健康な人の尿糖値が2～10mg/dlであることから、上記のような測定感度の向上の意義は非常に大きい。本発明のバイオセンサによれば50mg/dl以下の領域の尿糖を定量的に測定できるため、従来のセンサでは不可能であった、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となるからである。

【0080】また本発明のセンサを用いれば、尿に大量に含まれる尿素、ビタミンC、アセトアミノフェンの影響を有効に排除できる。このため、ビタミンCを含む清涼飲料を摂取したりアセトアミノフェンを含む解熱剤等を服用した場合にも正確な測定が可能となる。

【0081】本発明の測定器は、バイオセンサが着脱自在に設けられていることが好ましい。バイオセンサの電極部は使用により消耗するため、容易に交換できる構造とすることが望ましいからである。ここで、バイオセンサの部分のみが着脱自在になっている形態のほか、バイオセンサと他の部分とを接続する配線や、バイオセンサを含む部分が着脱自在になっている形態であってもよい。たとえば図16の構成の測定器において、バイオセンサ50と電気化学測定回路部51との間の配線54が着脱自在になっていてもよく、また、バイオセンサ50、配線54、および電気化学測定回路部51からなる部分が着脱自在になっていてもよい。

【0082】本発明の測定器におけるデータ処理部は、バイオセンサから得られた電気信号をもとに測定値を算出する機能を有しており、たとえば、上記電気信号をアナログ信号および／またはデジタル信号に変換し、測定値を算出するという形態で動作する。データ処理部は種々の手段を備えた構成とすることもでき、たとえば、

(a) 計時手段、(b) 測定時刻を設定する時刻設定手段および該時刻設定手段で設定した時刻になったことを報知する時刻報知手段、(c) 測定器の操作方法を説明する操作説明手段、(d) 算出した測定値を記憶する測

定値記憶手段、(e) 測定器の使用者の暗証番号を登録する暗証番号登録手段、(f) メモを登録するメモ登録手段、(g) 測定器の誤作動を検出する動作報知手段、

(h) 前記酵素電極の較正時期を検出し報知する較正時期報知手段、(i) 前記酵素電極の交換時期を検出し報知する電極交換時期報知手段、(j) 異常電流値を検出し報知する異常電流値報知手段、および(k) 前記酵素電極の較正を行う電極較正手段のうち、一部または全部を含む構成とすることができる。このような構成とすることにより、操作性がさらに向上する。ここで、上記(a)～(k)のうちまたは二以上の手段により得られた処理結果は、たとえば、報知部により報知されるものとする。

【0083】本発明の酵素電極の製造方法は、絶縁基板上に電極を形成する工程と、該電極に直接、または他の層を介して、酵素を含む第一の液を塗布した後、乾燥させ、固定化酵素層を形成する工程と、該固定化酵素層に直接、または他の層を介して、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーを含む第二の液を塗布した後、乾燥させ、制限透過層を形成する工程とを含むことを特徴とするものである。「フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマー」の好ましい実施形態等については、本発明に係る第一乃至第四の酵素電極についての説明の部分で述べたのと同様であり、たとえば、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステルが例示され、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチル、ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル、あるいは、メタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体等が挙げられる。

【0084】以下、図面を参照して本発明の実施形態についてさらに説明する。

【0085】（第1の実施の形態）本実施形態について図1を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、絶縁基板1上に作用極として機能する電極2が設けられ、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランを主成分とする結合層3が形成されている。そして、さらにその上に、触媒機能をもつ酵素を有機高分子中に固定化した固定化酵素層4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5が順次形成されている。

【0086】絶縁性基材1の材料としては、セラミックス、ガラス、石英、プラスチック等の絶縁性の高い材料から主としてなるものを用いることができる。耐水性、耐熱性、耐薬品性および電極との密着性に優れた材料であることが好ましい。

【0087】電極2の材料としては、たとえば白金、金、銀、炭素等から主としてなるものを用いることができ、このうち耐薬品性および過酸化水素の検出特性に優れた白金が好ましく用いられる。絶縁性基材1上の電極2は、スパッタリング法、イオンプレーティング法、真空蒸着法、ケミカル・ペーパー・ディポジッション法、電解法等により形成することができ、このうちスパッタリング法が望ましい。絶縁性基材1との密着性が良好であり、かつ、白金層を容易に形成できるからである。また、絶縁性基材1と電極2の密着性を改善するために、これらの間にチタン層やクロム層などを挟んでも良い。

【0088】電極2上に形成された結合層3は、その上の固定化酵素層4と、絶縁性基材1および電極2との密着性（結合力）を向上させる。また、絶縁性基材1の表面のぬれ性を改善し、酵素を固定化した固定化酵素層4を形成する際の膜厚の均一性を向上させる効果もある。さらには、電極2での過酸化水素の反応に干渉するアスコルビン酸、尿酸およびアセトアミノフェンに対する選択透過性もある。結合層3はシランカップリング剤から主としてなる。シランカップリング剤の種類としては、アミノシラン、ビニルシラン、エポキシシランが挙げられるが、このうち、密着性、選択透過性の観点から、アミノシランの一種であるγ-アミノプロピルトリエトキシシランが好ましい。結合層3は、例えばシランカップリング剤溶液をスピコートすることにより形成することができる。この際、シランカップリング剤濃度は、1 v/v%（体積／体積%）程度とすることが好ましい。選択透過性が顕著に向上するからである。

【0089】固定化酵素層4は、有機高分子を母材として、触媒機能をもつ酵素を固定化したものである。固定化酵素層4は、例えば、各種酵素、グルタルアルデヒド等のタンパク質架橋剤、およびアルブミンを含む溶液を、結合層3上に滴下し、スピコート法にて形成される。アルブミンは、各種酵素を架橋剤の反応から保護するとともにタンパク質の基材となる。酵素としては、乳酸酸化酵素、グルコース酸化酵素、尿酸酸化酵素、ガラクトース酸化酵素、ラクトース酸化酵素、スクロース酸化酵素、エタノール酸化酵素、メタノール酸化酵素、スターチ酸化酵素、アミノ酸酸化酵素、モノアミン酸化酵素、コレステロール酸化酵素、コリン酸化酵素およびビルビン酸酸化酵素等、触媒反応の生成物として過酸化水素を生成する、または酸素を消費する酵素が挙げられる。

【0090】ここで、2種類以上の酵素を同時に用いて過酸化水素を生成させてもよい。例えば、クレアチナーゼ、クレアチナーゼ、およびサルコシンオキシダーゼがこれに該当する。これらの酵素を用いることによってクレアチニンの検出が可能になる。また、酵素と補酵素を同時に用いてもよい。例えば、3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素とニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NA

D）がこれに該当する。これらの酵素を用いることによって3-ヒドロキシ酪酸の検出が可能になる。さらに、酵素と電子メディエータを同時に用いてもよい。この場合は、酵素によって還元された電子メディエータが電極表面上で酸化され、このときに得られる酸化電流値を測定する。例えば、グルコースオキシダーゼとフェリシアン化カリウムがこれに該当する。これらを用いることによってグルコースの検出が可能になる。

【0091】以上述べたように、固定化酵素層4は、少なくとも酵素を含み、測定対象物質を電極感応物質である過酸化水素等に変換する機能を持つ構成であれば、特に限定されない。

【0092】なお、固定化酵素層4の形成方法については、均一な膜厚を形成できる方法であれば特に制限がなく、スピコート法以外にもスクリーン印刷法などを用いることもできる。

【0093】制限透過層5を構成するメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルとは、メタクリル酸樹脂の一部、または全部をフルオロアルコールでエステル化され、前記フルオロアルコールとはアルコール中の水素のすべて、または少なくとも一つをフッ素に置き換えられたものである。たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルやポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを用いることができる。なお、本発明においては、たとえばポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルは、メタクリル酸の一部または全部が1H、1H-パーフルオロオクチルアルコールによりエステル化された重合体をいうものとする。

【0094】この制限透過層5は、パーフルオロヘキサン等のパーフルオロカーボンの溶媒で希釈したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル溶液を、触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4上に滴下してスピコート法により形成することができる。

【0095】溶液中のメタクリル酸樹脂フルオロアルコールエステル濃度は、測定対象物質にもよるが、0.1～5重量%とすることが好ましく、0.3重量%程度とすることがさらに好ましい。後述するように、この範囲とすることにより良好な制限透過性が発現するからである（図6）。

【0096】なお制限透過層5の形成方法については、均一な厚さの層が得られる方法であれば制限がなく、スピコート法以外にもスプレーコート法やディップ法なども用いることができる。

【0097】本実施形態の酵素電極をグルコースセンサとして使用する場合、最外層の制限透過層5がグルコースの拡散速度を制限し、グルコース酸化酵素を使用した有機高分子膜4が拡散してきたグルコースと酸素で触媒反応して過酸化水素とグルコノラクトンを発生する。このうち過酸化水素が電極2に到達した際の酸化電流を測

定してグルコースの濃度を知ることができる。測定時の電極系は、2極法の場合には外部から既存の参照極を使用し、3極法の場合は対極、参照極の両方を測定溶液中に同時に浸漬する。

【0098】(第2の実施の形態)次に、本実施形態について図2を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、絶縁基板1上に作用極として機能する電極2が設けられ、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3が形成されている。そして、さらにその上にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層6、有機高分子中に触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5が順次形成されている。

【0099】絶縁基板1上に形成する電極2、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン膜3は、第1の実施の形態と同様な方法により順次形成する。

【0100】パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層6は、純水で50%に希釈したエタノールに溶解させて調製したパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂をγ-アミノプロピルトリエトキシシランからなる結合層3上に滴下し、スピンコート法で形成される。溶媒としては、たとえばイソプロピルアルコール、エチルアルコール等のアルコールが用いられる。滴下するパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂の濃度は、好ましくは1~10w/v%、さらに好ましくは5~7w/v%とする。このような範囲とすることにより、過酸化水素の電極反応に干渉するアスコルビン酸の影響を排除する効果が顕著となるからである。

【0101】(第3の実施の形態)次に、本実施形態について図面を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、図3に示すように、絶縁基板1上に作用極7、対極8および参照極9が設けられ、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3が形成されている。そして、さらにその上に、有機高分子中に触媒機能をもつ酵素を固定化した固定化酵素層4、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5が順次形成されている。作用極7及び対極8の材料は、第1及び第2の実施形態における電極2と同様のものであればよい。参照極9の材料は銀/塩化銀が用いられる。

【0102】このような構成とすると、作用極、対極、参照極が一つの絶縁基板上に形成されるためセンサを駆動しながら溶液を交換することが可能になる。センサ表面が電解質等で濡れている限り、作用極、対極および参照極の電極間は電氣的に接続されることから、センサが一時的に空気に触れても計測が継続できるからである。また、3極法による正確な電気化学測定が可能になり、特に微小な電流検出型の酵素電極を実現することが可能になる。さらに、第2の実施の形態と同様にして、γ-

アミノプロピルトリエトキシシラン膜3と固定化酵素層4との間にパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂からなるイオン交換樹脂層を形成することも可能である。

【0103】(第4の実施の形態)次に、本実施形態について図面を参照して説明する。本実施形態の酵素電極は、図4に示すように、絶縁基板1上に2個の作用極7、1個の対極8および1個の参照極9が設けられ、その上にγ-アミノプロピルトリエトキシシランから主としてなる結合層3が形成されている。2個の作用極7上には、それぞれ異なる種類の酵素を固定化した固定化酵素層4、10が設けられている。そして、さらにその上に、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層からなる制限透過層5が形成されている。作用極7及び対極8の材料は、第1及び第2の実施形態における電極2と同様のものであればよい。参照極9の材料は銀/塩化銀が好ましく用いられる。

【0104】このような構成とすると、2個の作用極上に異なる触媒機能をもつ酵素を固定化した層が形成され、測定試料中の複数の特定試料成分を同時に測定することが可能となる。

【0105】(第5の実施の形態)本実施形態は、本発明に係る酵素電極の製造方法の一例を示すものである。

【0106】まず石英からなる基板上に、白金からなる作用極と対極、および銀/塩化銀からなる参照極を形成する。

【0107】次に各電極の表面および基板表面を洗浄する。洗浄方法としては、有機溶媒や酸等により洗浄する方法や超音波洗浄器を用いて洗浄する方法を用いることができ、これらを併用することもできる。有機溶媒や酸等としては、電極材料を損傷させないものが用いられる。有機溶媒としては極性溶媒が好ましく用いられ、アセトン等のケトン系溶媒、イソプロピルアルコール等のアルコール系溶媒を用いることができる。また、酸としては、希硫酸等が用いられる。このほか、電解カソード水を用いることもできる。電解カソード水とは、純水等を電気分解した際に陰極側に生成される液のことをいう。電解カソード水は中性~弱アルカリ性でありながら高い還元性を有するため、基板や電極の損傷を抑えつつ、基板表面および付着粒子の表面の電位とともに負電位とすることができ、脱離粒子の再付着を抑制することができる。上記したうち、たとえば、アセトンおよび希硫酸で順次洗浄するという方法が好ましく用いられる。

【0108】次いで、作用極、対極および参照極の表面に結合層を形成する。前述のように、結合層を構成する材料としては、γ-アミノプロピルトリエトキシシラン等のシランカップリング剤が好ましく用いられる。

【0109】カップリング剤液等の塗布方法としては、スピンコート法、スプレー法、ディップ法、加熱気流法等が用いられる。スピンコート法とは、カップリング剤等、結合層の構成材料を溶解または分散させた液をスピ



ンコーターにより塗布する方法である。この方法によれば膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。また、スプレー法とはカップリング剤液等を基板に向けてスプレー噴霧する方法であり、ディップ法とは基板をカップリング剤液等に浸漬する方法である。これらの方法によれば、特殊な装置を必要とせず、簡便な工程で結合層を形成することができる。また加熱気流法とは、基板を加熱雰囲気下に設置し、ここにカップリング剤液等の蒸気を流動させる方法である。この方法によっても膜厚の薄い結合層を膜厚制御性良く形成することができる。

【0110】カップリング剤液等の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は特に制限がないが、通常、室温（25℃）～170℃の範囲で行う。乾燥時間は、温度にもよるが、通常は0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0111】結合層形成後、酵素溶液を塗布し、固定化酵素層を形成する。酵素溶液の塗布方法としては、スピンコート法、ディップ法（浸漬法）等が用いられ、このうち膜厚制御性に優れるスピンコート法が好ましく用いられる。酵素溶液の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は酵素の活性が損なわれない範囲の温度とする。室温（25℃）～40℃の範囲とすることが好ましい。乾燥時間は、温度にもよるが0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0112】次に、ポリカルボン酸のフルオロアルコールエステル溶液等を塗布し、制限透過層を形成する。上記溶液の塗布方法としては、スピンコート法、ディップ法、スプレー法、刷毛塗り法等が用いられ、このうち膜厚制御性に優れるスピンコート法が好ましく用いられる。スピンコート法を用いた場合、0.01～3μm程度の薄膜からなる制限透過層を制御性良く形成することができる。また、基板を上記容積に浸漬するディップ法により塗布を行い、次いで窒素ガスを吹き付けながら乾燥を行う方法としてもよい。この方法によれば、簡便な方法で制限透過層を形成することができる。

【0113】上記溶液の塗布後、乾燥を行う。乾燥温度は、固定化酵素層の酵素の活性が損なわれない範囲の温度とすることが望ましく、室温（25℃）～40℃の範囲とすることが好ましい。乾燥時間は、温度にもよるが、通常、0.5～24時間とする。乾燥は空気中で行っても良いが、窒素等の不活性ガス中で乾燥させてもよい。たとえば、窒素を基板に吹き付けながら乾燥させる窒素ブロー法を用いることもできる。

【0114】以上のようにして、電極上に特定の機能を有する種々の層が形成された酵素電極が作製される。本

実施形態では、作用極、対極、参照極のすべてに対し、結合層、固定化酵素層、および制限透過層を設ける場合の例について説明したが、本発明の構成はこれに限定されず、たとえば、作用極および対極上には結合層、固定化酵素層、制限透過層を設け、参照極上には結合層と、参照極を保護するための保護層とを順次積層することもできる。また、本実施形態では作用極、対極、参照極の3極からなるバイオセンサについて説明したが、白金からなる作用極と参照極を石英基板上に設けた構成としてもよい。

【0115】（第6の実施の形態）本実施形態は、バイオセンサ、電気化学測定回路部、データ処理部、およびデータ報知部を具備した本発明の測定器の一例を示すものである。以下、図16および図17を参照して説明する。

【0116】この測定器は、図16に示すように、バイオセンサ50、電気化学測定回路部51、データ処理部52およびデータ報知部53が、配線54により接続された構成となっている。

【0117】バイオセンサ50は、たとえば、第1から第4の実施形態で説明した酵素電極を具備するものを用いることができる。バイオセンサ50は消耗品であるため、交換が容易な脱着式とすることが好ましい。

【0118】電気化学測定回路部51は、本実施形態ではポテンシオスタットを用いるが、バイオセンサ50に対して定電位を印加し、電流値を測定できる回路であれば、特に限定されない。

【0119】データ処理部52は、図17に示す構成となっており、計時手段60、時刻設定手段61、時刻報知手段62、操作説明手段63、測定値記憶手段64、暗証番号登録手段65、メモ登録手段66、動作報知手段67、校正時期報知手段68、電極交換時期報知手段69、異常電流値報知手段70および電極校正手段71を含んでいる。上記各手段を含む構成となっているため、本測定器の使用者は、電極の校正、測定、測定データの保存等を円滑に行うことができる。本実施形態では、データ処理部52としてパーソナルコンピュータ（以下、パソコンと記述する）を用いているが、電気化学測定回路部51からの信号を処理できるマイクロプロセッサ等の演算部を持つものであれば特に限定されない。データ処理部52で処理された信号は測定値に換算され、データ報知部53で測定値として表示される。

【0120】データ報知部53は、本実施形態ではパソコン用のディスプレイを用いているが、データ処理部52によって処理されたデータを報知する機能を有するものであれば特に限定されない。データ処理部52によって処理されたデータとは、データ処理部52で算出された測定値、バイオセンサ50の動作確認および誤作動の確認、異常電流値検出結果、バイオセンサ50の交換時期、バイオセンサ50の校正時期および校正手順、日



付、時刻、時計、データ処理部 52 の演算部によって処理された電気化学測定回路部 51 からの信号、初期設定時の操作手段と操作時に操作アドバイスをを行うときの操作説明等である。報知する手段はデジタル数値、アナログ数値、音声である。これ以外の報知手段として、音、光、振動、色彩、光、図形、熱を利用しても良いが、デジタル数値やアナログ数値が好ましく用いられる。

【0121】配線 54 はこれらを接続できる電線であればよい。

【0122】次に、データ処理部 52 に含まれる各手段 (図 17) について説明する。

【0123】計時手段 60 は、本実施形態ではパソコンに内蔵されている時計を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能を有するものであれば、特に限定されない。

【0124】時刻設定手段 61 は、計時手段 60 を利用して測定する時刻を設定する機能である。本実施形態では計時手段 60 と同様にパソコンに内蔵されている時計の機能の一部を利用するが、前記演算部に対して、時間を示す機能にさらに測定する時刻を設定できる機能を有するものであれば、特に限定されない。また、設定できる時刻は複数であることが好ましい。このようにすれば、一日に複数回の測定を行いたい場合に便利である。なお時刻設定手段 61 の利用の有無を選択可能になっていると、さらに便利である。

【0125】時刻報知手段 62 は、時刻設定手段 61 で設定された時刻に報知する機能である。例えば時刻設定手段 61 で 12 時間毎に報知するように設定すると、測定者は 12 時間毎に時刻報知手段 62 から測定時刻を知ることが可能になる。

【0126】操作説明手段 63 は、本発明の測定器の操作方法や操作を行う際の留意事項を説明する機能を有する。操作説明手段 63 の利用の有無は、設定により適宜選択できるようになっている。

【0127】測定値記憶手段 64 は、本測定器による測定値やその他の情報を記憶する手段であり、半導体記憶素子として RAM (ランダム・アクセス・メモリ) が好ましく使用される。測定値記憶手段 64 は複数の測定を記憶できるようになっていることが好ましい。測定値記憶手段 64 は、測定値だけでなく、データ処理部 52 において処理される種々の情報も記憶できるようになっている。記憶させる情報は、設定により適宜制限される。

【0128】暗証番号登録手段 65 は、特定人物以外の測定装置の使用と測定値の情報を制限する機能を有しており、これを備えていることにより使用者のプライバシーを保護することが可能となる。暗証番号の設定は 4 桁以上の数値もしくは英数字が、高い安全性を確保できる点で好ましい。また暗証番号登録手段 65 は、複数の暗証番号を登録できるものであることが望ましい。このようにすれば複数の使用者のプライバシーを保護すること

が可能となる。本実施形態では 4 桁の暗証番号を入力しないと、すべての情報の入出力を行うことができないようになっている。なお、暗証番号登録手段 65 の利用の有無は設定により適宜変更できるようになっている。

【0129】メモ登録手段 66 は、メモを登録できるメモ登録手段と、登録したメモ群を呼び出すメモ項目手段と、呼び出したメモ群から登録したいメモ項目を選択するメモ選択手段と、メモ選択手段で選択したメモを呼び出すメモ呼び出し手段とを備えた構成とすることが好ましい。本実施形態ではこのような構成となっており、測定者の情報として、例えば測定時の体重、血圧、体温をメモ登録手段を用いて登録する。なお、メモ登録手段 66 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0130】動作報知手段 67 は、バイオセンサ 50 と電気化学測定回路部 51 とデータ処理部 52 との間の配線 54 が断線しているか、もしくは少なくとも一つが接続されていない状態となっている場合に、このことを報知する機能を有している。なお、動作報知手段 67 の利用の有無は、設定により適宜変更できるようになっている。

【0131】較正時期報知手段 68 は、バイオセンサ 50 の較正時期を報知する手段である。酵素電極を一定程度使用すると較正が必要となるが、較正時期報知手段 68 はこの較正時期を報知する機能を有している。較正時期の判断は、測定時間または測定回数を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの両方もしくはいずれか一方を基準とすることができるようになっている。

【0132】電極交換時期報知手段 69 は、バイオセンサ 50 に含まれる電極の交換時期を報知する機能である。交換時期の判断は、測定時間、測定回数、電池の電圧低下等を基準に行うことができる。本実施形態では、設定により、これらの全部もしくはいずれか一つを基準とすることができるようになっている。

【0133】異常電流値報知手段 70 は、バイオセンサ 50、電気化学測定回路部 51、データ処理部 52 およびこれらを接続する配線 54 に異常電流が流れ、測定不能な状態に陥ったり、これらの一部が破損したことを報知する手段である。

【0134】なお、動作報知手段 67、較正時期報知手段 68、電極交換時期報知手段 69、および異常電流値報知手段 70 における「報知」は、たとえば前述したデータ報知部を介して行われ、これにより所定の情報が測定器の使用者に伝達される。

【0135】電極較正手段 71 は、初期使用時や較正時期において使用されるものであり、バイオセンサ 50 の較正手順を説明するとともにバイオセンサ 50 を較正する機能を有している。較正手順の説明等は、較正時期報知手段 68 を介して行われる。

【0136】本実施形態の測定器を用いると、バイオセンサの使用壽命や校正時期、測定器の操作手順等が表示されるため、装置の取り扱いに不慣れな人でも、高い精度の測定を容易に行うことができる。

【0137】本実施形態では、図16に示すように、バイオセンサ50、電気化学測定回路部51、データ処理部52およびデータ報知部53が、配線54により接続された構成としたが、電気化学測定回路部51を設けずに電気化学測定回路部51とデータ報知部53が直接に接続した構成とすることもできる。このようにした場合、バイオセンサ50から得られたアナログ信号がそのままデータ報知部53に送られ、目盛と針を用いた表示方法等により測定値が表示される。この場合、表示された値を尿糖値や血糖値に換算する表等を添付すれば便利である。

【0138】（第7の実施の形態）本実施形態は、図16の測定器に、更に温度センサ56、pHセンサ57を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図18を参照して説明する。

【0139】この測定器は、図18に示すように、バイオセンサ50と、電気化学測定回路部51と、データ処理部52と、データ報知部53と、温度センサ56と、pHセンサ57とが配線54で接続されている。

【0140】データ処理部52では温度センサ56とpHセンサ57からの電気信号を処理し、温度およびpHを算出する。そして、データ処理部52において算出される測定試料中の特定成分の測定値が、温度およびpHをもとに補正され、データ報知部53で表示される。

【0141】温度センサ56は、データ処理部52で処理できる形式のデータを得ることができるものであれば、特に限定されないが、熱電対温度計や抵抗温度計が好ましい。温度センサ56は、測定試料の温度または測定環境の温度を測定するものとする。測定試料の温度を測定する場合は、たとえば酵素電極を含むバイオセンサの設けられた基板上に温度センサ56を形成する。このようにすれば測定試料の温度を精度良く測定でき、測定試料中の特定成分の測定にあたって正確に補正を行うことができる。また、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、バイオセンサと温度センサ56を同時に測定試料中に浸漬する方式とすることもできる。このようにすれば、バイオセンサの交換の際に同時に温度センサも交換する必要はなく、低コスト化を図ることができる。測定環境の温度を測定する場合は、バイオセンサと独立した温度センサを備える構成とし、温度センサ56を測定環境中に設置する。温度センサ56は、たとえばデータ報知部53や電気化学測定回路部51の内部に設置する。このようにすれば、測定環境が、測定可能な温度条件内にあるかどうかを容易にチェックすることが可能となる。

【0142】図15はバイオセンサの設けられた基板上

に温度センサ56を形成した測定器の一例を示すものである。この測定器は、絶縁基板1上に作用極7、対極8、および参照極9が形成され、併せて温度センサ56が設けられている。作用極7、対極8、および温度センサ56の上には、結合層3、固定化酵素層4および制限透過層5がこの順で形成されており、参照極9上には、結合層3、保護層20が形成されている。このような構成とすれば、温度による測定値の補正を正確に行うことができる。

【0143】pHセンサ57は、ガラス電極やイオン感応性電界効果型トランジスタを好ましく用いることができるが、これらに限定されるものではない。pHセンサ57の校正には、バイオセンサ50を構成する際に使用する校正液中にpH指示薬を予め溶解したものを用いることができる。このようにすれば、バイオセンサ50とpHセンサ57の校正を同時に行うことが可能となる。pH指示薬は通常のガラスpHメータに使用されているシュウ酸塩溶液やフタル酸塩溶液が好ましい。

【0144】本実施形態の測定器を用いれば、温度範囲およびpH範囲の広い測定試料中の特定成分を正確に測定することが可能になる。測定した測定試料毎の温度、pHを用いて、酵素電極の測定値を補正できるからである。

【0145】なお、本実施形態では温度センサ56およびpHセンサ57が、データ処理部52に接続した構成をとっているが、これらが電気化学測定回路部51に接続していてもよい。

【0146】（第8の実施の形態）本実施形態は、図18の測定器に対し、データ処理部に接続された通信処理部をさらに具備した構成とし、この通信処理部により、データ処理部で得られたデータが、測定器の外部に転送されるようにしたものである。以下、図19を参照して説明する。

【0147】本実施形態の測定器は、図19に示すように、データ処理部52と通信処理部58とが配線54で接続された構成となっている。通信処理部58は測定値に関する情報を外部に伝達する手段である。通常モデムが使用されるが、通信処理機能を有するものであれば限定されない。伝達に使用される通信回線として、電話回線、赤外線、無線等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。伝達される情報としては、データ処理部52において処理される情報、データ報知部53で表示される情報が挙げられる。例えばバイオセンサ50の電流値、暗証番号、測定時刻、pH、温度、メモ内容、データ処理部52で算出された測定値、バイオセンサ50の交換時期、バイオセンサ50の校正時期、バイオセンサ50の動作確認および誤作動の確認、異常電流値、データ処理部52の演算部によって処理された電気化学測定回路部51からの信号が、通信処理部58によって測定器の外部に伝達される。伝達先は、通信回線等を通

じて接続されたサーバーやコンピュータ等である。なお、伝達される情報は、設定により、適宜選択することができるようになっている。

【0148】本実施形態の測定器を用いれば、在宅で糖尿病患者自身が自分の尿糖を測定し、電話回線を通じて測定結果を病院等の医療機関に送信することが可能になる。その結果、医療機関から食事管理や運動管理等の適切なアドバイスを受けられ、在宅で糖尿病患者の病態管理が可能になる。さらに、バイオセンサの誤作動等のデータも送ることができるため、例えば製造メーカから装置の修理や保全といったサービスも適宜受けることも可能になる。

【0149】（第9の実施の形態）本実施形態は、図19の測定器に、更に印刷部59を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図20を参照して説明する。

【0150】本実施形態の測定器は、図20に示すように、データ処理部52と印刷部59とが配線54で接続された構成となっている。印刷部59は、感熱式、熱転写式、ドットインパクト式、インクジェット式、レーザービーム乾式であればよいが、特に限定されない。望ましくは、低コストで構造の簡単な感熱式がよい。印刷部59と接続される配線54は、電線でなくとも、印刷部59を使用しないときの使用形態を考慮して、赤外線を用いてもよい。印刷部59は、データ報知部53に表示されるデータを印刷できればよいが、設定により、印刷するデータを限定することもできる。

【0151】本実施形態の測定器を用いれば、測定値等のデータを紙に印刷して保存しておくことが可能になるだけでなく、糖尿病患者が印刷機能を利用して測定結果をプリントした用紙を病院に持っていく医師に結果を示し、この測定結果を見た医師から適切なアドバイスを受けることが可能になる。

【0152】（第10の実施の形態）本実施形態は、図20の測定器に、更に外部記憶部55を具備した測定器の一例を示すものである。以下、図21を参照して説明する。

【0153】本実施形態の測定器は、図21に示すように、データ処理部52と外部記憶部55とが配線54で接続された構成となっている。外部記憶部55としては、通常の記憶媒体を用いることができ、フロッピーディスク等の磁気記憶媒体や、メモリーカード等の半導体記憶媒体、および光ディスク等の光記憶媒体が好ましく用いられる。脱着が容易で、低価格で入手できるためである。

【0154】本実施形態の測定器を用いれば、測定したデータを記憶媒体に保存することができるので、使用者は、必要に応じて病院にこの記憶媒体を持参することができる。そして、病院の医師は記憶された測定データを解析し、糖尿病患者等に適切な医療措置を施すことが可能になる。また、大量の測定データを長期間保存するこ

とも可能になる。さらに、暗証番号によって管理するため、患者のプライバシーを守ることにも可能になり、一台の装置を複数人で使用することもできる。なお、記憶させる内容は、設定により、適宜選択できるようになっている。

【0155】

【実施例】以下、実施例により本発明をより詳細に説明する。

【0156】（実施例1）まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極（面積7mm<sup>2</sup>）と対極（面積4mm<sup>2</sup>）、銀／塩化銀からなる参照極（面積1mm<sup>2</sup>）を形成した。

【0157】つづいて、全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートして結合層を形成した。その後、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピコートして、固定化酵素層を形成した。

【0158】その後、最外層（制限透過層）の構成を変えて以下の2種類の酵素電極を作製した。

（1）固定化酵素層の上に全面に、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピコートした後、乾燥を行って制限透過層を形成し、第一の酵素電極を作製した。スピコートの条件は3000rpm、30秒間とした。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。フロラード722は、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルであり、平均分子量（Mn）は約7000程度（GPC測定値）である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。なお、同様にしてメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを石英基板上に直接スピコートしたサンプルについて膜厚測定を行った。製膜後、超音波カッターで膜の一部を剥離し、凹凸を生じさせ、その後、原子間力顕微鏡により凹凸を測定することにより膜厚を測定した。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル膜の厚みは約50nmであった。

【0159】（2）固定化酵素層の上に全面に、トルエンを用いて10w/v%に調製したポリアルキルシロキサンをスピコートした後、乾燥を行って制限透過層を形成し、第二の酵素電極を作製した。ポリアルキルシロキサンはダウコーニング社製のペルガンZを使用した。

【0160】以上のようにして作製した第一または第二のいずれかの酵素電極を備えた2種類のセンサを、150mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES（エヌ・トリス（ヒドロキシメチル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬して保存し、200mg/dlのグルコース標準液を毎日1回、20日間測定した。図5に2種センサのグルコースに対

するセンサ出力を、初日の出力値を100%としたときの相対出力値で示した。また、表1には一定期間使用后、走査型電子顕微鏡にて制限透過層表面を観察し、亀裂の発生頻度を比較したデータを示す。

【0161】ポリアルキルシロキサン使用のセンサは7日間経過後、センサ出力が増加し始めた(図5)。また初期状態より膜に亀裂が生じ、時間の経過とともに亀裂

表1. 制限透過層表面の亀裂の発生状態

メタクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル使用のセンサ		
	初期状態	20日間後
酵素膜なし	1	1
酵素膜あり	1	1

ポリアルキルシロキサン使用のセンサ		
	初期状態	20日間後
酵素膜なし	2	3
酵素膜あり	2	5

【0163】なお、発生頻度は1cm×1cmの面積中に観察される亀裂の頻度を5つの水準に分類した。

- 1・・・検出不可
- 2・・・少し発生(数カ所)
- 3・・・発生(数十カ所または大きな亀裂1カ所)
- 4・・・多く発生(数百カ所または大きな亀裂数カ所)
- 5・・・非常に多く発生(大きな亀裂が数十カ所)

表1の結果より、相対センサ出力上昇の原因は制限透過層の亀裂によるものと考えられる。制限透過層の亀裂は、下層に位置する固定化酵素層の膨潤に耐えきれず発生したものと考えられる。本実施例の結果は、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルからなる制限透過層は、下層に酵素膜があってもその膨潤を十分許容できる膜強度を保持できることを示している。

【0164】なお、本実施例では作用極、対極および参照極を具備したセンサを用い、これらの電極上のすべてに結合層、固定化酵素層および制限透過層を形成した構成としたが、これらの層を作用極のみに形成した構成として

【0165】(実施例2) まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0166】つづいて、全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成し

が増加する傾向を示した(表1)。一方、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサは、少なくとも20日間は安定したセンサ出力を与え、亀裂の発生も認められなかった。

【0162】

【表1】

た。

【0167】その後、固定化酵素層の上に、キシレンヘキサフルオライドを用いて0.3重量%に調整したアクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピンコートにより塗布した後、乾燥を行い、制限透過層を形成した。以上により酵素電極を作製した。スピンコートの条件は3000rpm、30秒間とした。塗布液は、ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルのキシレンヘキサフルオライド溶液(アクリル酸樹脂含有率17%、キシレンヘキサフルオライド含有率83%、粘度20cps(25℃))を、上記のように、さらにキシレンヘキサフルオライドを添加して濃度調整したものをを用いた。

【0168】以上のようにして作製した酵素電極を備えたセンサを、150mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ヒドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬して保存し、200mg/dlのグルコース標準液を毎日1回、20日間測定した。また、走査型電子顕微鏡にて制限透過層表面を観察し、亀裂の発生状態を確認した。その結果、本実施例のセンサは、実施例1のアクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサと同様、少なくとも20日間は安定したセンサ出力を与え、制限透過層表面の亀裂の発生も認められなかった。

【0169】(実施例3) まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1

mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0170】つづいて全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した後、5w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液をスピンコートしてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層を形成した。次に、グルコース酸化酵素を含み、かつ0.5v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。

【0171】そしてその上に0.02、0.06、0.1、0.3重量%の濃度のメタクリル酸樹脂フルオロアルコールエステル溶液を、スピンコート法で製膜した。スピンコートの条件は、3000rpm、30秒とした。

【0172】メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。フロラード722の原液はメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルに換算すると2重量%である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルの製膜条件は、フロラード726で適宜希釈した濃度である。

【0173】各センサの相対出力値は、図6に示されているように、グルコースの制限透過性は、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル濃度が0.02重量%以上の場合において認められ、0.1重量%とすることにより広範囲にわたる測定が可能となる。特に0.3重量%以上の場合、3000mg/dlの濃度まで電流出力値が直線性を示し、高濃度のグルコース溶液の測定が可能であった。また、このときのセンサの応答時間は、平均して約15秒以下であった。このような速い応答速度が得られるのは、制限透過層を、非常に薄い均一な薄膜として形成することが可能なためである。本実施例のように3000rpm、30秒でスピンコートした場合、0.01μmから0.1μm程度の均一な薄膜が得られる。

【0174】(実施例4)まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0175】つづいて1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した後、5w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液をスピンコートしてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層を形成した。次に、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。

【0176】その後、最外層の構成を変えて2種類の酵

素電極を作製した。

【0177】一方については、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピンコートした。スピンコートの条件は3000rpm、30秒間とした。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。平均分子量(Mn)は約7000程度である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。

【0178】他方については、固定化酵素層の上に、トルエンを用いて10w/v%に調製したポリアルキルシロキサンをスピンコートした。ポリアルキルシロキサンはダウコーニング社製のペルガンZを使用した。

【0179】以上のようにして作製した酵素電極を備えた2種類のセンサを、150mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬して保存し、400mg/dlの尿素を含む200mg/dlのグルコース標準液を10回連続して測定した。図7に2種センサのグルコースに対するセンサ出力を、初回の出力値を100%としたときの相対出力値で示した。

【0180】その結果、ポリアルキルシロキサンのセンサは2回目の測定以降にセンサ出力が低下し始め、センサ出力は10回目まで86%まで低下した。一方、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサでは、10回の繰り返し測定では安定した出力を示した。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサの出力が安定していた理由としては、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルの表面自由エネルギーが、ポリアルキルシロキサンよりも低いため、尿素が付着しにくいことによると思われる。

【0181】(実施例5)まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0182】つづいて1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した後、5w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液をスピンコートしてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層を形成した。次に、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。

【0183】その後、最外層の構成を変えて2種類の酵素電極を作製した。

【0184】一方については、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピンコートした。スピンコ

ートの条件は3000rpm、30秒間とした。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。平均分子量(Mn)は約7000程度である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。

【0185】他方については、固定化酵素層の上に、トルエンを用いて10w/v%に調整したポリアルキルシロキサンをスピコートした。ポリアルキルシロキサンはダウコーニング社製のペルガンZを使用した。

【0186】以上のようにして作製した酵素電極を備えた2種類のセンサを、150mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ヒドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬して保存し、約20mg/dlのグルコースを含むバイオラッド(株)社製の定量用尿コントロール正常(ライフチェック)を10回連続して測定した。図8に2種センサのグルコースに対するセンサ出力を、初回の出力値を100%としたときの相対出力値で示した。

【0187】その結果、ポリアルキルシロキサンのセンサは2目の測定以降にセンサ出力が低下し始め、センサ出力は10回目で28%まで低下した。一方、メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサでは、10回の繰り返し測定では安定した出力を示した。このことはメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルが尿中に含まれるセンサ出力の低下を引き起こす物質の付着を実用的に十分に防止できることを示している。

【0188】メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを使用したセンサの出力が安定していた理由としては、ポリアルキルシロキサンよりも表面張力が低いため、尿素ならびに他のセンサ出力の低下を引き起こす妨害物質に反応しないためであると思われる。

【0189】(実施例6)石英基板上に、1個の対極、1個の参照極および3個の作用極(電極面積3mm<sup>2</sup>)を形成した。つづいて全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピコートした。次にフォトリソグラフィ技術を用い、3個の作用極上にそれぞれ、①グルコース酸化酵素と1v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%アルブミン溶液、②乳酸酸化酵素と0.5v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%のアルブミン溶液、および③エタノール酸化酵素と1v/

v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%のアルブミン溶液をスピコートした。

【0190】このようにして固定化酵素層を形成した後、最外層の構成を変えて2種類の酵素電極を作製した。

【0191】一方については、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピコートした。スピコートの条件は3000rpm、30秒間とした。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。平均分子量(Mn)は約7000程度である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。

【0192】他方については、固定化酵素層の上に、5w/v%のパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂溶液をスピコートしてパーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)を主成分とするイオン交換樹脂層を形成した。

【0193】以上のようにして作製した酵素電極を備えるセンサを用い、繰り返し測定した際の測定値の変動を評価した。100mg/dlグルコース、20mM乳酸および20mMエタノールを含む混合液を11回繰り返して測定し、測定値の変動係数(C.V.値)を求めた。変動係数とは標準偏差/平均値×100で表される値を示す。

【0194】最外層にメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル層を形成した酵素電極を用いた場合、表2に示すように測定成分を問わず安定した測定値が得られた。この理由として、上記樹脂層は荷電を有しないため乳酸等の電解性物質との相互作用が小さいこと、上記樹脂層はエタノール等の測定物質に対する耐薬品性に優れること、同一絶縁基板上に形成した2つ以上の作用極、および2種類以上の酵素が互いの成分測定に影響しないことが挙げられる。

【0195】一方、パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂層を最外層に形成した場合、この樹脂膜はエタノールに溶解するため、エタノール測定時に制限透過性が低下する。また、この樹脂膜は荷電を有するため乳酸等の電解性物質の測定を行った場合、変動が大きくなる。

【0196】

【表2】

表2 (各種成分測定における測定時の変動係数の評価)

## メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルを形成した場合

測定成分	変動係数 (%)
測定成分グルコース	3.1
乳酸	3.0
エタノール	3.3

## パーフルオロカーボンスルホン酸樹脂(ナフィオン)層を最外層に形成した場合

測定成分	変動係数 (%)
グルコース	2.8
乳酸	6.7
エタノール	7.2

【0197】(実施例7) まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0198】 つづいて、全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。その後、最外層の構成を変えて以下の2種類の酵素電極を作製した。

【0199】 (1) 固定化酵素層の上に全面に、パーフルオロヘキサンを用いて0.3重量%に調整したメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルをスピンコートして、第一の酵素電極を作製した。スピンコートの条件は3000rpm、30秒間とした。メタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステルは住友スリーエム社製のフロラード722を使用した。フロラード722は、ポリメタクリル酸1H、1H-パーフルオロオクチルであり、平均分子量(Mn)は約7000程度である。希釈液であるパーフルオロヘキサンは、住友スリーエム社製のフロラード726を使用した。

【0200】 (2) 固定化酵素層の上に全面に、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合体1.7重量%を含むキシレンヘキサフルオライド溶液を用意し、この溶液をスピンコートして第二の酵素電極を作製した。アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルとメタクリル酸シクロヘキシルの共重合比は約8:2であり、アクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル基の数aと、メタクリル酸シクロヘキシル基の数bの比率a/bは、約8/2であった。

【0201】 以上のようにして作製した第一または第二のいずれかの酵素電極を備えた2種類のセンサを、15

0mMの塩化ナトリウムを含むpH7のTES(エヌ・トリス(ハイドロキシメチル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に40℃で浸漬して保存し、0~2000mg/dlのグルコース標準液を48時間後に測定した。印加電位は、参照極に対して作用極に700mVとした。

【0202】 以上のようにして40℃でのセンサ出力の安定性を評価した。浸漬前および浸漬48時間後におけるセンサ出力の測定結果を図12に示す。図12(a)は第一の酵素電極を備えたセンサを用いた測定結果である。図12(b)は第二の酵素電極を備えたセンサを用いた測定結果である。第一の酵素電極を備えたセンサでは必ずしも充分な安定性は得られなかったのに対し、第二の酵素電極を備えたセンサでは、浸漬前(図中の0時間)と48時間経過後の出力がほぼ一致し、優れた安定性を示すことが明らかになった。

【0203】(実施例8) まず10mm×6mmの石英基板上に、白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。

【0204】 つづいて、全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエトキシシラン溶液をスピンコートして結合層を形成した。その後、グルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む2.5w/v%アルブミン溶液をスピンコートして、固定化酵素層を形成した。

【0205】 その後、①ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシル0.85重量%、および②ポリメタクリル酸シクロヘキシル0.085重量%を溶解させたキシレンヘキサフルオライド溶液を用意し、この溶液をスピンコートして第二の酵素電極を作製した。

【0206】 以上のようにして作製した酵素電極を備えたセンサについて、0~2000mg/dlのグルコー



ス標準液に対する検量線を作成した。印加電位は、参照極に対して作用極に700mVとした。得られた検量線を図13(a)および(b)に示す。なおこれらの検量線は同一のセンサについて得たものである。図からわかるように、本実施例のセンサは0~2000mg/dlの広い領域にわたって良好な感度を示す。特に、2~50mg/dl mg/dlのグルコースに対しても十分な電流値を示す。このため本実施例のセンサを用いれば、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となる。

【0207】次に、約2mg/dlのグルコースを含む健康な人の尿を10回連続して測定した。結果を図14に示す。繰り返し再現性は約3%であり、尿に含まれる低濃度のグルコースを再現性良く測定可能であった。

【0208】(実施例9) 本実施例は、図16の構成を有する測定器の一例を示すものである。

【0209】はじめに本実施例に係る測定器のバイオセンサ部の作製手順について説明する。まず10mm×6mmの石英基板上に白金からなる作用極(面積7mm<sup>2</sup>)と対極(面積4mm<sup>2</sup>)、銀/塩化銀からなる参照極(面積1mm<sup>2</sup>)を形成した。つづいて、全面に1v/v%のγ-アミノプロピルトリエキシシラン溶液をスピコートして結合層を形成した。その後、56.5U/μlグルコース酸化酵素を含み、かつ1v/v%のグルタルアルデヒドを含む22.5w/v%のアルブミン溶液をスピコートして固定化酵素層を形成した。そしてその上に1.7重量%のアクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステル溶液をスピコートして制限透過層を形成した。アクリル酸樹脂のポリフルオロアルコールエステルは、ポリアクリル酸1H、1H、2H、2H-パーフルオロデシルを使用した。希釈液はキシレンヘキサフルオライドを使用した。スピコートの条件は3000rpm、30秒とした。

【0210】以上のようにして電極部を形成したバイオセンサを用い、図16に示す構成の測定器を作製した。電極部分とフレキシブル基板はワイヤーボンディングで結線し、フレキシブル基板と電気化学測定回路部はピンジャック型の電線を用いて接続した。

【0211】電気化学測定回路は、北斗電工社製のポテンシオスタットHOKUTODENKOPOTENTIostat/GALVANOSTATH A150Gを使用した。データ処理装置は、日本電気(株)社製のパーソナルコンピュータPC-9821RaII23を使用した。データ報知部53は、日本電気(株)社製のディスプレイPC-KP531を使用した。電気化学測定回路とデータ処理装置とデータ報知部53とをピンジャック型の電線で接続した。

【0212】続いて、本実施例の測定器の動作について説明する。使用者は、酵素電極を具備するバイオセンサを150mMの塩化ナトリウムを含むpH7の1mM TES (エヌ

・トリス(ハイドロキシル)・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド)緩衝液中に浸漬し、次いで装置の電源を入れた。すると、データ報知部に「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示された。この表示に基づいて使用者がキーを操作して現在の時刻を入力すると、データ報知部に「現在の時刻が入力されました。」と表示された。正確に時刻が入力されないと、再度「時刻を設定します。現在の時刻を入力して下さい。」と表示されるようになっている。こうして、入力された現在の時刻はデータ処理部に保存される。

【0213】次に、データ報知部に「準備中です。しばらくお待ち下さい。」と表示された。酵素電極から送られてくる電流値が安定すると、データ報知部に「校正を行います。電極を校正液に浸漬して下さい。」と表示された。この表示に基づいて、使用者は、バイオセンサを200mg/dlグルコースの校正液に浸漬して校正を行った。すると、データ報知部に「校正が正常に完了しました。洗浄後、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。正常に校正されたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「校正できません。電極を洗浄し、再度、校正液に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージが表示される。校正終了後、使用者は酵素電極を緩衝液に浸漬し、測定の準備を整えた。校正が終了してから10秒間以上、電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。

【0214】つづいて使用者は、データ報知部に表示された「測定開始」の項目を選択した。するとデータ報知部には、「測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。」というメッセージが表示された。この表示に基づいて使用者は、電極を尿に浸漬して測定を開始した。測定を開始してから10秒後、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は〇〇mg/dlです。」と表示された。正常に測定が行われたか否かはデータ処理部が判断し、その結果がデータ報知部に表示されるようになっている。校正が正常に行われなかった場合は、「測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」というメッセージがデータ報知部に表示される。

【0215】測定完了後、データ報知部に「電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。測定終了後10秒間以上電極が緩衝液に戻されない場合には、警告音が発生するようになっている。その後、使用者はデータ報知部の「測定終了」の項目を選択し、測定を終了した。

【0216】本実施例の測定器は、測定すべき時刻を予め設定しておくこともできる。設定した時刻になると、報知音が発生するとともに、データ報知部に「測定を開

始します。電極を尿に浸漬して下さい。】というメッセージが表示される。設定時刻は任意に設定でき、複数の時刻を設定できるようになっている。

【0217】本実施例の測定器におけるデータ処理部への入力に際しては、入力を受け入れられた場合と、入力を受け入れられない場合に、報知音が発せられるようになっている。報知音ではなく報知光を発するようになってよい。また、酵素電極、電気化学測定回路、データ処理装置および電線間に異常電流が生じると、異常電流報知手段によって【異常電流が検出されました。】とデータ報知部に表示される。この表示によって、装置の破損を防ぐことができる。

【0218】さらに、バイオセンサ、電気化学測定回路、データ処理装置は、いずれもピンジャック型の電線で接続されているため、これらの間において脱着が容易であり、必要に応じて交換が可能である。

【0219】以上のように本実施例の測定器を用いれば、規則正しい時刻に測定を行うことができ、さらに操作ミスが発生することなく、誰にでも簡単に扱うことが可能になる。

【0220】（実施例10）本実施例は、図18に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例9の測定器に対し、さらに、pHセンサおよび温度センサを付加したものとなっている。

【0221】温度センサおよびpHセンサとして、それぞれ熱電対方式の温度センサとイオン感応性電界効果型トランジスタ方式のpHセンサを用いた。pHセンサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、およびデータ報知部は、それぞれ電線により接続した。

【0222】以下、本実施例の測定器の動作について説明する。使用者はまず酵素電極を150mMの塩化ナトリウムを含むpH7の1mM TES（エヌ・トリス（ハイドロキシル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約1分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を200mg/dlグルコース標準液に浸漬し、酵素電極の校正を行った。このグルコース標準液は、pH指示薬も含まれているため、同時にpHセンサの校正も同時に行うことができる。なお、電極の交換時を除き、酵素電極が接続された状態で装置の電源は切られないようになっている。

【0223】つづいて使用者はデータ報知部に表示された【測定開始】の項目を選択した。すると【測定を開始します。電極を尿に浸漬して下さい。】というメッセージがデータ報知部に表示された。

【0224】この表示に基づいて使用者は、被験者として2人の糖尿病患者の尿糖を続けて一回ずつ測定した。なお、測定の際にメモ登録手段を利用して、被験者の血圧と体温を同時に入力した。その結果、1人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して10秒後に、データ報知部に

【測定が正常に完了しました。尿糖値は80mg/dlです。】と表示され、同時に音声で【測定が正常に完了しました。尿糖値は80mg/dlです。】と表示された。続いて約20秒後、2人目の患者が酵素電極を尿中に浸漬して10秒後に、データ報知部に【測定が正常に完了しました。尿糖値は180mg/dlです。】と表示され、同時に音声で【測定が正常に完了しました。尿糖値は180mg/dlです。】と表示された。この時に既存の臨床検査装置（日立自動分析装置7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）との測定値の比較を行った結果、測定値はほぼ一致し、高い相関を示した。

【0225】このように本実施例の測定器を用いることにより、2人の尿糖を連続測定することができた。また、視力の衰えた人でも確実に自分の尿糖値を知ることが可能であった。さらにメモ登録手段を利用して入力しておいた体温と血圧を呼び出し、尿糖値と比較することが可能になり、詳細な病態管理が可能になった。また、得られた測定値に対して温度補正とpH補正を行ったため、既存の臨床検査装置に匹敵する高い測定精度の測定を行うことができた。

【0226】（実施例11）本実施例は、図19に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例10の測定器に対し、さらに、通信処理部58を付加したものとなっている。通信処理部58は、日本電気(株)社製のモデム・ターミナルアダプタPC-IT65SIPを使用した。pHセンサ、温度センサ、電気化学測定回路、データ処理装置、データ報知部、通信処理部の各部は、いずれも電線により接続した。

【0227】この装置を用いて、1人の糖尿病患者の尿糖を30日間、毎日2回（朝食後、夕食後、それぞれ2時間後）連続して測定し、測定後のデータを電話回線を利用して逐一、病院に送信した。

【0228】その結果、患者は尿糖の測定時間を遵守し、病院は送られた尿糖値をもとにグラフ化して解析し、適宜患者の病態管理を行うことができた。

【0229】（実施例12）本実施例は、図20に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例11の測定器に対し、さらに、印刷部59を付加したものとなっている。印刷部59としては、日本電気(株)社製のレーザープリンタMultiwriter2000Xを使用した。データ処理装置と印刷部はプリンタケーブルPC-CA202で接続した。以下、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。

【0230】この装置を用いて、100人の糖尿病患者の尿糖を連続して測定した。較正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置（日立自動分析装置7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は0.96、回帰式は $Y=1.09X+8$

8となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、本実施例の測定器を用いた場合の測定時間は、1サンプル当たり90秒程度であり、迅速な測定が可能であった。さらに本実施例の測定器は、印刷部59を具備しているため、測定結果が速やかに印刷され、確認を行うことができた。患者は、測定値の印刷されたものを病院に持ち込み、医師からのアドバイスを受けることもできた。

【0231】（実施例13）本実施例は、図21に示す構成を有する測定器の一例を示すものである。この測定器は、実施例12の測定器に対し、さらに、外部記憶部55を付加したものとなっている。外部記憶部として、日本電気(株)社製の3.5インチ光ディスクユニットPC-0D302Rを使用した。外部記憶装置とデータ処理部とは、電線により接続した。以下、本実施例の測定器の動作について説明する。

【0232】使用者はまず酵素電極を150mMの塩化ナトリウムを含むpH7の1mM TES（エヌ・トリス（ハイドロキシル）・メチル・2-アミノエタンサルフォニックアシッド）緩衝液中に浸漬してから装置の電源を入れた。約1分後、酵素電極のベース電流値が安定化した。この状態で酵素電極を200mg/dlグルコース標準液に浸漬し、酵素電極の校正を行った。

【0233】つづいて使用者は、データ報知部に表示された「測定人数の入力」の項目を選択し、「測定人数を入力して下さい。」と表示させた。この表示に基づいて使用者が測定する人数を入力すると、データ報知部に「○人の測定を行います。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。「はい、Y」が選択されると、「○人の測定が可能です。」と表示された。「いいえ、N」であれば、再度、「測定人数入力して下さい。」と表示され、「はい、Y」が選択されるまで上記手順が繰り返される。

【0234】次に使用者は、データ報知部に表示された「暗証番号」の項目を選択し、次いで「暗証番号の登録」を選択した。データ処理部は暗証番号入力ボタンが押されたことを認識して、データ報知部に「暗証番号を登録します。4桁の番号を入力して下さい。」と表示させる。この表示に基づいて使用者がキーを操作して4桁の番号を入力すると、データ報知部に「同じ暗証番号を入力して下さい。」と表示された。使用者が再度同じ番号を入力すると、「暗証番号を受け付けました。」と表示された。暗証番号の登録は測定人数登録される。こうして、登録した暗証番号はデータ処理部内のメモリに保存される。

【0235】次に、データ報知部に「測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。」と表示された。この表示に基づいて使用者は、暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して測定を開始

した。すると、データ報知部に「測定が正常に完了しました。尿糖値は〇〇mg/dlです。」と表示された。測定が正常に行われなかった場合には、「測定できません。電極を洗浄し、再度、尿に浸漬して下さい。」もしくは「電極が壊れています。交換して下さい。」と表示されるようになっている。また、正しい暗証番号が入力されないと、再度「測定を開始します。暗証番号を入力してから、電極を尿に浸漬して下さい。」と表示される。また、3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までの測定データはすべて消去され、初期設定に戻るようになっている。

【0236】測定が正常に完了した後、データ報知部に「電極を洗浄し、緩衝液に戻して下さい。」と表示された。

【0237】次に使用者はデータ報知部の「メモ登録」を選択し、「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示させた。「Y」を選択すると、「暗証番号を入力して下さい」と表示された。暗証番号を入力してから、メモ内容を入力すると、データ報知部に「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。「Y」を入力し、メモを入力すると、再度「メモを登録しますか。（はい、Y/いいえ、N）」と表示された。使用者は「Y」を入力し、メモの登録を行った。これらの入力をやめるときには「N」を入力すればよい。また、登録したメモを呼び出したり、修正したり、消去するときには、「暗証番号を入力後、メモ番号を指定して下さい。」と表示される。この表示に基づいて使用者は暗証番号を入力すると、メモを呼び出したり、修正したり、消去することができる。暗証番号が正しく入力されない場合には「暗証番号が一致しません。再度暗証番号を入力して下さい。」と表示される。3回連続して暗証番号が一致しないと、前回までのメモ内容はすべて消去され、初期設定にもどる。

【0238】次に、本実施例の測定器を用いて測定を行った結果について説明する。本実施例の測定器を用いて、2人の糖尿病患者の尿糖を1日2回、一週間、繰り返して測定した。校正は装置を立ち上げたときに一回のみ行った。同じ試料について既存の臨床検査装置（日立自動分析装置7050、グルコースデヒドロゲナーゼ法）を用いた測定も行い、本実施例の測定器および既存の臨床検査装置の測定結果の比較を行った。その結果、相関係数は0.955(n=28)となった。本実施例の測定器によれば、臨床検査装置と同等の測定精度が得られることが明らかになった。また、メモ機能を利用して患者名を入力していたため、測定値のデータを取り違えることも無く、さらに、暗証番号で管理されているため、測定時のプライバシーを守ることでも可能であった。また、測定データを棒グラフで表示することもできた。さらに、データが記憶されている光ディスクは、携帯可能であるため、別のパソコンでデータの管理を行ったり、データの

解析を行うこともできた。

【0239】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の酵素電極およびこれを用いたバイオセンサは、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、フルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合したポリマーから主としてなる制限透過層を有するため、以下のような効果を奏する。

【0240】第一の効果は、タンパク質や尿素化合物等の汚染物質の付着が抑制され、長期使用した場合にも安定した出力特性が得られることである。これは、フルオロアルコールエステル基等のフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基はほとんどの非フッ素系溶剤や界面活性剤等の洗浄剤に対して難溶性を示すことによる。したがって、体液などの多様な化学物質を含む成分系においても安定した繰り返し測定結果が得られる。

【0241】第二の効果は、固定化酵素層等の他の有機高分子層との良好な密着性が得られ、応答速度の迅速化、洗浄に要する時間の短縮化を図られるとともに、層構造の耐久性が向上して長期使用した場合にも損傷の起こりにくい酵素電極が得られることである。良好な密着性が得られる理由は、上記ポリマーがフッ素を含まないビニル系重合体からなる主鎖を有することによる。なお、ペンダント基が、エステル基を介して主鎖に結合する構造をとることにより、さらに密着性改善が図られる。

【0242】第三の効果は、良好な制限透過性が得られ、測定濃度範囲を大幅に拡大できることである。良好な制限透過性が得られる理由は、制限透過層を構成するポリマーが、フッ素を含まないビニル系重合体に対し、少なくともフルオロアルキレンブロックを含有するペンダント基が結合した特有の構造を有していることによる。

【0243】第四の効果は、制限透過性が良好なため制限透過層の層厚を薄くすることが可能となり、応答速度の迅速化、および洗浄に要する時間の短縮化が図られることである。

【0244】第五の効果は、乳酸等のイオン化した物質についても安定した測定が可能なことである。これは、制限透過層が荷電を有しないため乳酸等のイオン化した物質との相互作用が小さいことによる。

【0245】また、本発明によれば、量産性に優れる酵素電極、バイオセンサが得られる。本発明の酵素電極は、その層構造を、各種溶液をスピコート法等により塗布することによって形成できるので、既存のプレーナ製造工程の大部分を流用することが可能であり、大量に、しかも低コストで生産が可能となるからである。

【0246】また、対極および参照極を作用極と一緒に絶縁基板上に組み込むことによりセンサ自体を小型化できる。これにより携帯性等に優れたセンサを得ることが

できる。

【0247】さらに、本発明の酵素電極において、異なる触媒機能をもつ複数の酵素を固定化した固定化酵素層を設ければ、測定試料中の複数の特定試料成分を同時に測定できるという利点が得られる。

【0248】また、本発明のバイオセンサを、尿中のグルコース（尿糖）を測定する尿糖センサとして用いれば、従来のセンサでは不可能であった、尿糖値が正常範囲内にある人や、糖尿病予備軍に該当する人の尿糖を測定することが可能となり、糖尿病の予防に役立つデータ収集が可能となる。また、層構成を適宜に設計することにより、尿に大量に含まれる尿素、ビタミンC、アセトアミノフェンが測定値に与える影響を有効に排除できる。

【0249】また、本発明の測定器は、特定構造の作用極を具備するバイオセンサを有しているため、長期安定性に優れ、広範囲な測定条件下で使用することが可能である。その上、操作方法が簡便であり、装置に不慣れな人でも簡単に扱うことができる。

【0250】また、本発明の酵素電極の製造方法は、特定構造のポリマー成分を含む液を塗布・乾燥することにより制限透過層を形成するため、繰り返し測定時における安定性、隣接する層との密着性、耐久性、制限透過性等にすぐれる制限透過層を、膜厚制御性良く形成することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の酵素電極の一例を示す断面図である。

【図2】本発明の酵素電極の一例を示す断面図である。

【図3】本発明の酵素電極の一例を示す断面図である。

【図4】本発明の酵素電極の一例を示す断面図である。

【図5】本発明のグルコースセンサ（尿糖センサ）の安定性を示す図である。

【図6】本発明のセンサにおけるセンサ出力とメタクリル酸樹脂のフルオロアルコールエステル濃度との関係を示す図である。

【図7】本発明のグルコースセンサ（尿糖センサ）の安定性を示す図である。

【図8】本発明のグルコースセンサ（尿糖センサ）の安定性を示す図である。

【図9】従来の酵素電極の断面図である。

【図10】本発明のバイオセンサの概略図である。

【図11】従来の酵素電極の断面図である。

【図12】本発明に係るグルコースセンサ（尿糖センサ）の40℃におけるセンサ出力安定性を評価した結果を示す図である。

【図13】本発明に係るグルコースセンサ（尿糖センサ）の測定感度を示す図である。

【図14】本発明に係るグルコースセンサ（尿糖センサ）の安定性を示す図である。

【図15】本発明の測定器のセンサ部分の一例を示す図

である。

【図 16】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図 17】本発明の測定器に含まれるデータ処理部の構成の一例を示す図である。

【図 18】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図 19】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

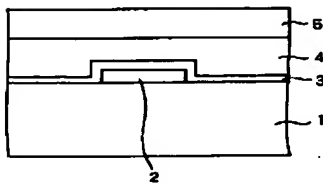
【図 20】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

【図 21】本発明の測定器の構成の一例を示す図である。

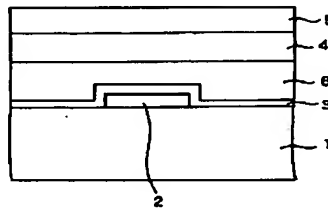
【符号の説明】

- |            |               |
|------------|---------------|
| 1 絶縁基板     | 32 固定化酵素層     |
| 2 電極       | 33 接着層        |
| 3 結合層      | 34 高分子層       |
| 4 固定化酵素層   | 35 制限透過層      |
| 5 制限透過層    | 36 接着層        |
| 6 イオン交換樹脂層 | 37 保護層        |
| 7 作用極      | 50 バイオセンサ     |
| 8 対極       | 51 電気化学測定回路部  |
| 9 参照極      | 52 データ処理部     |
| 10 固定化酵素層  | 53 データ報知部     |
| 20 保護層     | 54 配線         |
| 30 基板      | 55 外部記憶部      |
| 31 電極      | 56 温度センサ      |
|            | 57 pHセンサ      |
|            | 58 通信処理部      |
|            | 60 計時手段       |
|            | 61 時刻設定手段     |
|            | 62 時刻報知手段     |
|            | 63 操作説明手段     |
|            | 64 測定値記憶手段    |
|            | 65 暗証番号登録手段   |
|            | 66 メモ登録手段     |
|            | 67 動作報知手段     |
|            | 68 校正時期報知手段   |
|            | 69 電極交換時期報知手段 |
|            | 70 異常電流値報知手段  |
|            | 71 電極校正手段     |

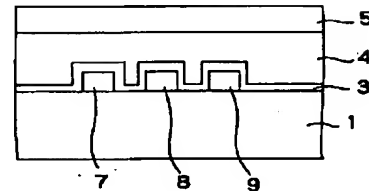
【図 1】



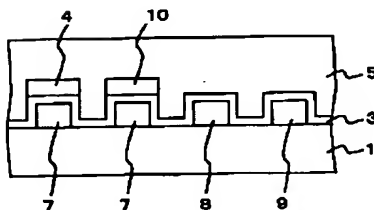
【図 2】



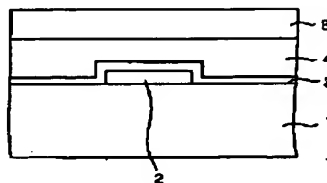
【図 3】



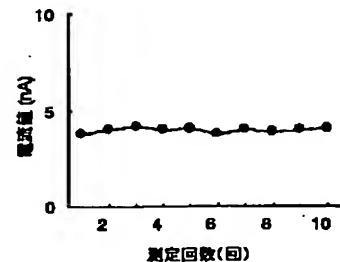
【図 4】



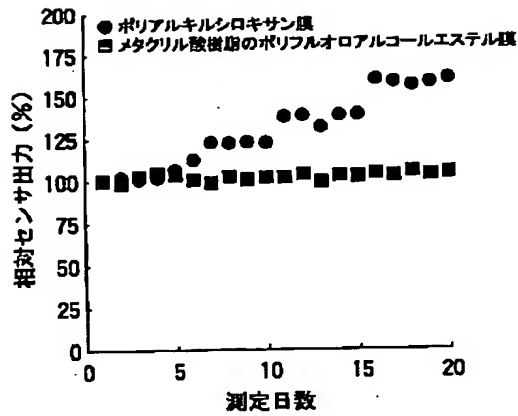
【図 9】



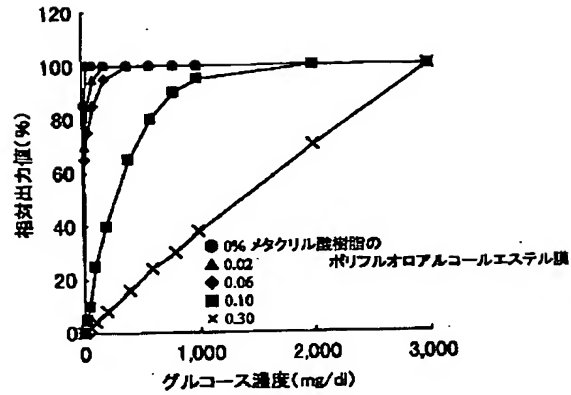
【図 14】



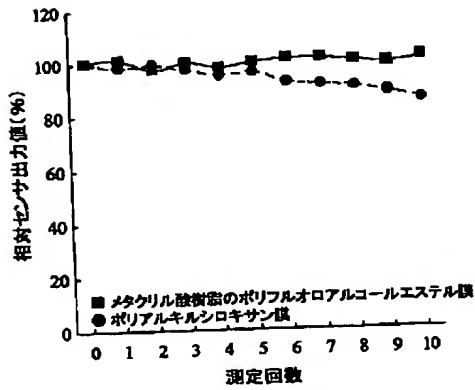
【図5】



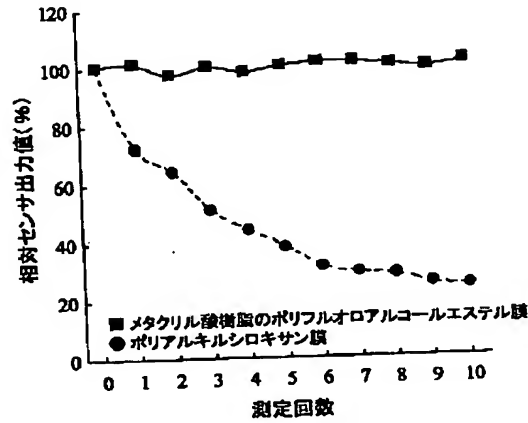
【図6】



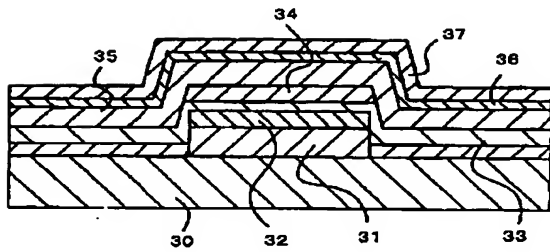
【図7】



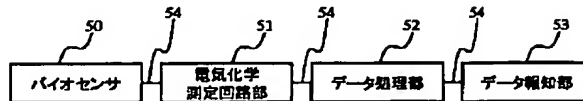
【図8】



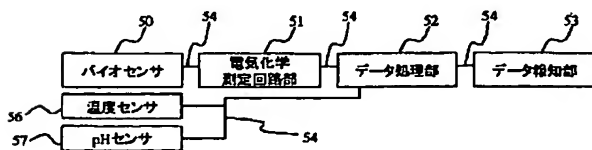
【図11】



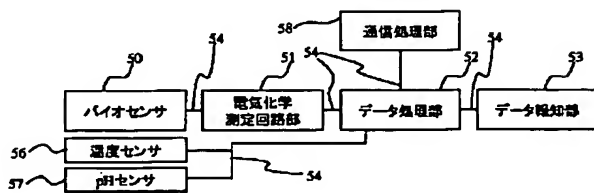
【図16】



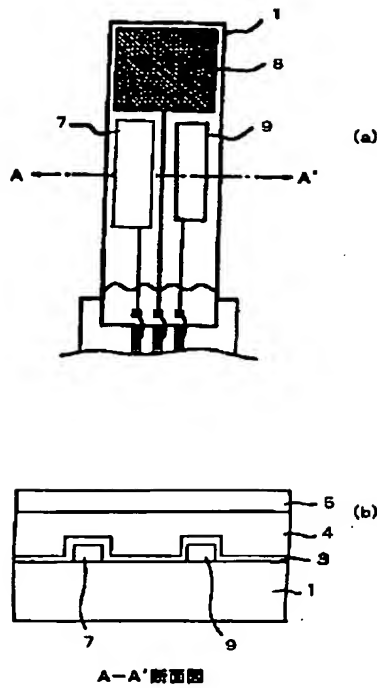
【図18】



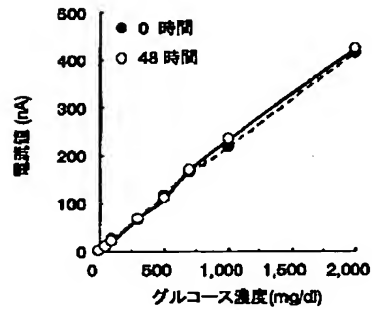
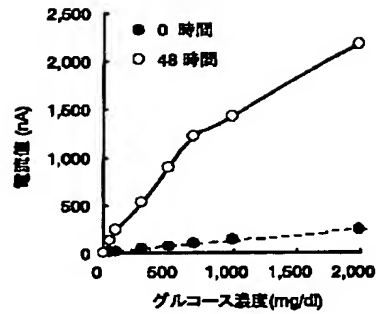
【図19】



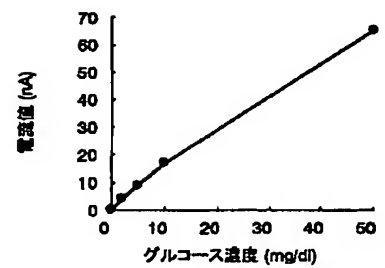
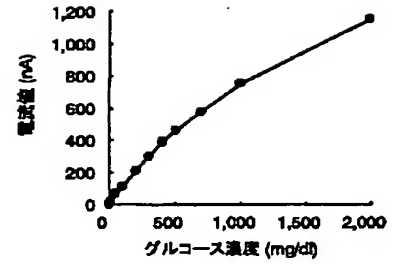
【図10】



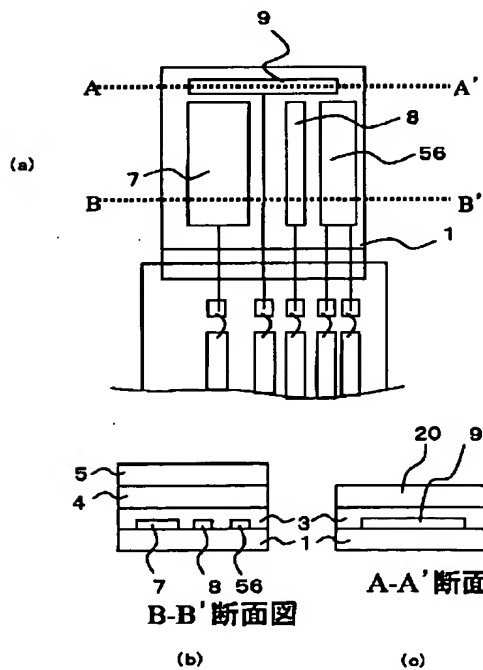
【図12】



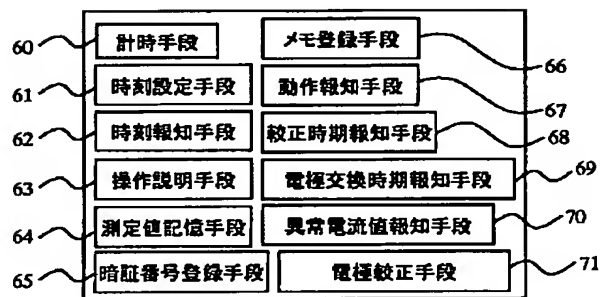
【図13】



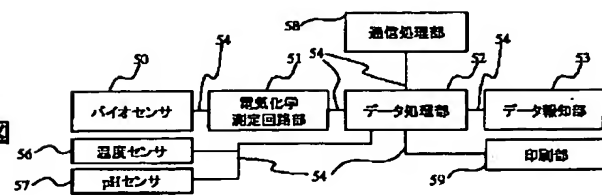
【図15】



【図17】



【図20】





【図 21】

